

**PULLU SAZAN (*Cyprinus carpio*, L., 1758)'DA
DIAZINON'UN CİNSİYET STEROİDLERİ VE
VİTELLOJENİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ
VE HİSTOPATOLOJİSİ**

CENGİZ KORKMAZ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN
TEMMUZ – 2013**

**PULLU SAZAN (*Cyprinus carpio*, L., 1758)'DA
DIAZINON'UN CİNSİYET STEROİDLERİ VE
VİTELLOJENİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ
VE HİSTOPATOLOJİSİ**

CENGİZ KORKMAZ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. A. Erdem DÖNMEZ**

**MERSİN
TEMMUZ – 2013**

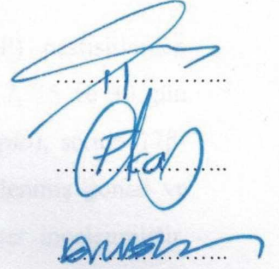
Cengiz KORKMAZ tarafından Yrd. Doç. Dr. A. Erdem DÖNMEZ danışmanlığında hazırlanan "Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi" başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Serap YALIN

Doç. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ

Yrd. Doç. Dr. A. Erdem DÖNMEZ



Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 06./09./2013 tarih ve 2013.16./456 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Mehmet KÜÇÜKASLAN
Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

**PULLU SAZAN (*Cyprinus carpio*, L., 1758)'DA
DİAZINON'UN CİNSİYET STEROİDLERİ VE VITELLOJENİN
DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ VE HİSTOPATOLOJİSİ**

Cengiz KORKMAZ

ÖZ

Bu çalışmada kullanımı yaygın olan Organofosfatlı (OP) pestisitlerden diazinonun iki farklı derişimine (0,488 mg / L ve 0,976 mg / L) 7, 15 ve 30 gün süresince maruz kalan erkek ve dişi adi sazanların (*Cyprinus carpio*), serum 17 β -Estradiol (E₂), testesteron (T), vitellojenin (VTG) seviyeleri belirlenmiş gonad ve karaciğer dokularından örnekler alınarak histopatolojik değişiklikler incelenmiştir. Erkek sazanlarda E₂ seviyeleri kontrol grubuna göre artmış, 7. gün her iki derişim uygulamasında, 15. gün ise yüksek derişim uygulamasında T seviyeleri azalmıştır. VTG seviyeleri her iki derişim uygulamasında 15. günde artış gösterirken, 30. günde 15. güne kıyasla azalmıştır. Dişi sazanlarda 30. gün yüksek derişim uygulamasında E₂ seviyelerini artarken, testesteron seviyelerinde önemli bir değişiklik belirlenmemiştir. VTG seviyeleri dişi balıklarda deney sonunda düşüş göstermiştir. Histopatolojik muayenede, karaciğer dokusunda safra kanalları ve sinuzoidlerde dilatasyon, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu, nekrozlar ve pigment birikimlerinin varlığı saptanmıştır. Testis dokularında dejenerasyonlar, konjesyon ve fibrosizasyon rastlanmıştır. Ovaryum dokularında ise oositler arasında adezyonlar ve oositlerin sitoplazmalarında nekrozlar saptanmıştır. Sonuç olarak diazinonun endokrin bozucu (EB) özellik gösterdiği ve dişi ile erkek bireyleri farklı düzeylerde etkilediği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : *Cyprinus carpio*, diazinon, cinsiyet hormonları, vitellojenin, histopatoloji.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. A. Erdem DÖNMEZ, Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Ana Bilim Dalı.

**EFFECTS OF DIAZINON ON SEX STEROID LEVELS AND
PLASMA VITELLOGENIN CONCENTRATION AND
HISTOPATHOLOGY OF COMMON CARP (*Cyprinus carpio*, L., 1758)**

Cengiz KORKMAZ

ABSTRACT

Common carp (*Cyprinus carpio*) of both sexes were exposed to two doses (0.488 mg / L and 0.976 mg / L) of the widely used insecticide diazinon for a period of 7, 15, 30 days and effects on the concentrations of plasma sex steroids (testosterone (T), 17 β -estradiol (E₂), plasma vitellogenin (VTG)) and gonad and liver histopathology were examined. In male carps, 0.488 mg / L and 0.976 mg / L diazinon elevated E₂ levels following 7, 15 and 30 days . T levels reduced after 7 days in both doses and after 15 days in the highest dose exposure. 0.488 mg / L and 0.976 mg / L diazinon exposure elevated VTG levels after 15 days and reduced at the end of experiment according to 15 days. In female carps, 0.976 mg / L diazinon elevated E₂ levels after 30 days. T levels shows no significant alterations during the experiment. However, 0.488 mg / L and 0.976 mg / L diazinon reduced VTG levels in female carp, at the end of experiment according to control. Histopathological examination of liver showed dilatation of the bile ducts and sinusoids, congestion, lymphocytic infiltration, accumulation of pigment and necrosis. In testis, degeneration, congestion and fibrosis were observed. Adhesions between oocytes and necrosis of oocytes sitoplasms in ovary, were also been investigated. The results showed that diazinon can effect the male and female individuals differently and has an endocrine disrupting potential.

Key Words: *Cyprinus carpio*, diazinon, sex steroids, vitellogenin, histopathology

Advisor: Assistant Professor Dr. A. Erdem DÖNMEZ, Faculty of Fisheries,
Universty of Mersin

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesi, araştırmanın yapılması, tezin yazımı ve yürütülmesi sırasında göstermiş olduğu katkılardan ötürü danışman hocam Yrd. Doç. Dr. A. Erdem DÖNMEZ'e, deney materyalinin örneklenmesi sırasında göstermiş olduğu katkılardan dolayı Arş. Gör. Mustafa BARIŞ'a, örneklerin analiz sürecinde gerek teorik gerekse pratik katkılarından ötürü Prof. Dr. Serap YALIN'a, istatistiksel analiz konusunda katkılardan ötürü Doç. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ'a, tez yazımı sırasında katkılarından ötürü Doç. Dr. Özcan AY'a, desteğini hiç bir zaman esirgemeyen hayat arkadaşım, eşim Büşra KORKMAZ'a ve bu günlere gelmemde en büyük paya sahip ailem Ülkü KORKMAZ ve Aydın KORKMAZ'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZ.....	i
ABSTRACT	i
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. PESTİSİTLER	3
2.2. ORGANOFOSFATLI BİLEŞİKLER (OF)	5
2.3. ORGANOFOSFATLI PESTİSİTLER.....	7
2.4. DİAZİNON	10
2.5. TELEOSTLARIN ENDOKRİN SİSTEMİ ve STEROİD HORMONLAR ...	12
2.6. VİTELLOJENEZ	15
2.7. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	16
2.8. ÖNEMİ ve AMACI	20
3. MATERYAL ve YÖNTEM	21
3.1. MATERYAL	21
3.1.1. Çalışma materyali.....	21
3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kitler	21
3.2. YÖNTEM.....	22
3.2.1. Diazinon uygulaması.....	22
3.2.2. Kan ve doku örnekleri	22
3.2.3. Testesteron analizi.....	22
3.2.4. 17β-estradiol analizi	23
3.2.5. Vitellojenin analizi	24
3.2.6. Histolojik inceleme	24
3.2.7. İstatiksel analiz.....	26
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	27

4.1. BULGULAR.....	27
4.1.1. Erkek balıklarda serum E2, T ve VTG seviyeleri.....	27
4.1.1.1. Serum E2 seviyeleri.....	27
4.1.1.2. Serum T seviyeleri.....	28
4.1.1.3. Serum VTG seviyeleri.....	30
4.1.1.4. Serum E2 ve T seviyeleri arasındaki ilişki.....	31
4.1.1.5. Serum E2 ve VTG seviyeleri arasındaki ilişki.....	32
4.1.2. Dişi balıklarda serum E2, T ve VTG seviyeleri.....	34
4.1.2.1. Serum E2 seviyeleri.....	34
4.1.2.2. Serum T seviyeleri.....	35
4.1.2.3. Serum VTG seviyeleri.....	36
4.1.2.4. Serum E2 ve VTG seviyeleri arasındaki ilişki.....	38
4.1.3. Histolojik Bulgular.....	39
4.1.3.1. Karaciğer Dokusu.....	39
4.1.3.2. Testis Dokusu.....	45
4.1.3.3. Ovaryum Dokusu.....	48
4.2. TARTIŞMA.....	49
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ.....	81

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. 1980 – 2007 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde OF insektisit kullanım oranı.....	7
Çizelge 2.2. 2001 - 2007 arasında Amerika Birleşik Devletlerinde en yaygın kullanılan OF insektisitler ve kullanım oranları.....	9
Çizelge 3.1. Parafin Doku Takibi İşlemleri	25
Çizelge 3.2. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	26
Çizelge 4.1. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum E2 seviyeleri.....	27
Çizelge 4.2. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum T seviyeleri.....	29
Çizelge 4.3 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum VTG seviyeleri.	30
Çizelge 4.4 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum E2 seviyeleri.....	34
Çizelge 4.5 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum T seviyeleri.....	35
Çizelge 4.6 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum VTG seviyeleri.	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Diazinonun kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2.2 Atlantik pisibalgı hipofizinin sagital görünümü.....	12
Şekil 2.3. Balıklarda vitellojenez kontrolü.....	15
Şekil 4.1. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum E2 seviyeleri.....	28
Şekil 4.2. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum T seviyeleri.....	29
Şekil 4.3. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum VTG seviyeleri.....	31
Şekil 4.4. 7 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek <i>C. carpio</i> 'ların serum E2 ve T seviyeleri.....	31
Şekil 4.5. 15 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek <i>C. carpio</i> 'ların serum E2 ve T seviyeleri.....	32
Şekil 4.6. 30 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek <i>C. carpio</i> 'ların serum E2 ve T seviyeleri.....	32
Şekil 4.7. 7 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek <i>C. carpio</i> 'ların serum E2 ve VTG seviyeleri.....	33
Şekil 4.8. 15 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek <i>C. carpio</i> 'ların serum E2 ve VTG seviyeleri.....	33
Şekil 4.9. 30 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek <i>C. carpio</i> 'ların serum E2 ve VTG seviyeleri.....	33
Şekil 4.10 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum E2 seviyeleri.....	35
Şekil 4.11. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum T seviyeleri.....	36
Şekil 4.12. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan <i>C. carpio</i> 'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum VTG seviyeleri.....	37
Şekil 4.13. 7, 15 ve 30 gün sürelerince dişi <i>C. carpio</i> 'ların serumlarında kontrol grubunda belirlenen E2 ve VTG seviyeleri ve aralarındaki ilişki.....	38
Şekil 4.14. 7, 15 ve 30 gün sürelerince dişi <i>C. carpio</i> 'ların serumlarında 0,488 mg / L derişim seviyesinde belirlenen E2 ve VTG seviyeleri ve aralarındaki ilişki.....	38
Şekil 4.15. 7, 15 ve 30 gün sürelerince dişi <i>C. carpio</i> 'ların serumlarında 0,976 mg / L derişim seviyesinde belirlenen E2 ve VTG seviyeleri ve aralarındaki ilişki.....	39
Şekil 4.16. Kontrol karaciğer dokusu	40
Şekil 4.17. 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında (30. gün) karaciğer sinüzoidlerinde dilatasyon ve konjesyon, piknotik çekirdekli hepatositler	41
Şekil 4.18. 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında (30. gün) karaciğerde vena konjesyonu, lenfosit infiltrasyonu.....	41
Şekil 4.19 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında (30. gün) karaciğerde portal venalarda proteokazeöz sıvı birikimi	42
Şekil 4.20. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında (7. gün) karaciğerde sinüzoidlerde proteokazeöz sıvı birikimi piknotik çekirdekli hepatositler.....	42

Şekil 4.21. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında (7. gün) karaciğerde hepatoportal damarlarda dilatasyonlar, konjesyon ve nekroz	43
Şekil 4.22. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında (7. gün) karaciğerde safra kanalında dilatasyon ve melanomakrofaj merkezi	43
Şekil 4.23. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında (30. gün) karaciğerde hücrel parenşimde safra pigmentleri birikimleri	44
Şekil 4.24. Kontrol grubu testis dokusu	45
Şekil 4.25. 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında testiste seminifer tübül yapılarında yaygın dejenerasyonlar.....	46
Şekil 4.26. 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında testiste fibrozis.....	46
Şekil 4.27. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında testiste venöz konjesyonlar.....	47
Şekil 4.28. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında testiste fibrozis.....	47
Şekil 4.29. Kontrol grubunda oositlerin görünümleri	48
Şekil 4.30. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında oositlerde adezyonlar ve sitoplazmik nekrozis.....	48

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
EB	: Endokrin Bozucu
VTG	: Vitellojenin
OF	: Organofosfatlı
AChE	: Asetikolinesteraz
EPA	: ABD Çevre Koruma Örgütü
ATSDR	: Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı
ACTH	: Adrenokortikotropin
TSH	: Tiroit Stimüle Edici Hormon
GtH-I, GtH-II	: Gonadotropin
MSH	: Melanosit Stimüle Edici Hormon
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
17,20 β P	: 17,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one
17,20 β ,21P	: 17,20 β ,21-trihydroxy-4-pregnen-3-one
E2	: 17 β -estradiol
T	: Testesteron
11-KT	: 11-ketotestesteron
E1	: Esterone
GSI	: Gonadosomatik indeks
NSB	: Non-Specific Binding
TA	: Total Activity
Blk	: Blank
MFO	: Monooksijenaz Sistemi
EROD	: Ethoxyresorufin-O-deethylase
ER	: Östrojen Respetörü
T3	: Triiodothironin
T4	: Tiroksin

1. GİRİŞ

İnsan, hayvan ve bitkilerin üzerinde veya çevrelerinde yaşayan, besin kaynaklarının üretim, depolanma ve tüketimi sırasında besin değerini düşüren ya da zarara uğratan böcek, kemirici, yabancı ot, mantar gibi canlı formlarının yıkıcı etkilerini azaltmak için kullanılan kimyasal maddelere pestisit denilmektedir [FAO, 2007]. Pestisitler etki ettikleri canlı grubuna göre 5'e ayrılırlar. Bunlar; insektisitler, herbisitler, fungusitler, rodentisitler ve fumigantlardır [WHO, 2008]. İnsektisit grubu içinde yer alan organofosfatlılar (OF) kimyasal maddeler içinde geniş yer kaplayan bir grup olup [Kazemi vd., 2012] kullanım oranları, 70'li yıllardan sonra giderek artmıştır [Elersek ve Filipic, 2011].

OF genel etkilerini merkezi ve periferik sinir sisteminde bulunan asetikolinesteraz (AChE) enzimini inhibe ederek gösterirler [Fulton ve Key, 2001]. AChE inhibisyonu, postsinaptik hücrelerde ya da merkezi sinir sisteminde bulunan asetikolin reseptörlerinin arka arkaya uyarılmasına neden olur. Buda asetikolinin birikimine neden olur. Asetikolinin aşırı derecede birikimi, otonomik disfonksiyon, istem dışı hareketler, kas seğirmeleri ve solunum yetmezliği gibi semptomlara neden olabilir [Pope, 1999].

Diazinon, OF pestisitler arasında en yaygın kullanılan bileşiklerden biri olup [Grube vd., 2011], koyunların bit, kene ve uyuz tedavisinde, ev ve toprak böcekleri ile mücadelede, meyve, sebze, süs bitkisi, çim ve tarla bitkilerinde ise haşereleri kontrol etmek amacıyla kullanılmaktadır [Kime, 1998]. Ayrıca, balık çiftliklerinde kontrolsüz olarak üremiş zooplanktonlara (Dafnia vb.) karşı kullanıldığı da bilinmektedir [Machova ve ark., 2007]. Zararlı haşereler ile mücadelede kullanılan diazinon, sucul ekosistemlere karışarak besin zincirine girmekte ve bu sayede hem insanlara hemde hedef dışı canlılara zarar vermektedir [Cope vd., 2004]. Ticari olarak "Knox-Out", "Dianon" ve "Basudin" gibi isimler ile piyasada satılmakta ve ABD Çevre Koruma Örgütü (EPA)'nın yayınladığı rapora göre balıklar için oldukça toksik olduğu belirtilmektedir [EPA, 2004]. Diazinonun, ölüm ile sonuçlanan direk toksik etkilerinin yanı sıra, kanserojenik, genetik mutasyonlara yol açan, deri lezyonlarına neden olan, üreme ve endokrin sistemi bozan etkileri mevcuttur

[Lorenz, 2006]. Diazinonun endokrin bozucu (EB) özellik gösterdiğine dair yapılmış çalışmalar bulunmaktadır [Bisson ve Hontela, 2002, Jamili vd., 2008 Manabe vd., 2006, Maxwell ve Dutta, 2005, Moore ve Waring 1996,].

EB maddeler östrojenik etki göstererek, cinsiyet steroidlerinin yapılarını bozmakta ve omurgalılarda feminizasyona neden olmaktadır [Kloas ve Lutz, 1999]. Bunun yanı sıra zamansız vitellojenin (VTG) üretimi, gerilemiş yumurta ve testis gelişimi, kanda anormal steroid hormon seviyeleri, interseksüalite, yumurta atrezisinde artış, düşük yumurta ve döl verimi ve büyümede gerilik gibi etkiler oluştururlar [Jobling ve Tyler, 2003].

Bu çalışma kapsamında OF'lı bir pestisit olan diazinonun *Cyprinus carpio*'da endokrin sistemi bozucu etkileri araştırılmış, pestisit iki farklı derişimine (0,448 mg / L ve 0,976 mg / L) 7, 15 ve 30 gün süresince maruz kalan *C. carpio*'da 17 β -Estradiol (E2), testesteron (T) ve vitellojenin (VTG) seviyeleri belirlenmiş, gonad ve karaciğer dokularının histopatolojik incelemesi yapılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. PESTİSİTLER

Ülkemizde ve dünyada artan nüfusa bağlı olarak, gereksinim duyulan gıda ihtiyacını karşılamak, tarımsal üretimin en önemli sorunlarından birisidir. Sınırlı tarım alanlarının genişlemesinin mümkün olmaması üreticileri birim alandan alınan verimi arttırmaya yönlendirmektedir. Bunu gerçekleştirebilmek amacıyla birçok üretici zararlı böcek, hastalık ve bitki ile mücadelede yoğun tarım ilacı (pestisit) kullanımını tercih etmekte, bu da kısa ve uzun vadede çevreye, hedef dışı canlılara ve ekosisteme ciddi zararlar vermektedir.

Pestisitler insan, hayvan ve bitkilerin üzerinde veya çevrelerinde yaşayan, besin kaynaklarının üretim, depolanma ve tüketimi sırasında besin değerini düşüren ya da zarara uğratan böcek, kemirici, yabancı ot, mantar gibi canlı formlarının yıkıcı etkilerini azaltmak için kullanılan kimyasal maddelerdir [FAO, 2007] .

Zararlı canlıları ortadan kaldırmak ya da kontrol etmek amacıyla kimyasal maddelerin kullanımı yüz yıllar öncesine dayanmaktadır. Çinliler arseniği böcekleri kontrol etmede kullanmıştır. Romalılar zararlı otlar ile mücadelede tuzdan, böcekler ile mücadelede ise sülfürden faydalanmışlardır. 1800'lü yıllarda pyrethrin'in böcek öldürücü etkisi keşfedilmiştir. Çinliler ve Güney Amerikalılar derris (baklagillerden bir bitki türü) bitkisinin köklerini balık zehiri olarak kullanmışlardır. 1895 yılında bu bitki türündeki etken maddenin rotenone olduğu tespit edilmiş ve böcekler ile mücadelede kullanılmıştır. 1800'lü yıllarda bakır ve arsenik tuzlarının karışımından elde edilen "Paris Yeşili" insektisit olarak kullanılmıştır. Kireç ve bakır sülfattan elde edilen "Bordeaux Karışımı" ise fungusit olarak kullanılmıştır. Fakat bugün bildiğimiz anlamda pestisit özelliğine sahip bileşiklerin ortaya çıkışı 1900'lü yıllara dayanmaktadır [Cope vd., 2004].

Ham petrolden elde edilen petrol yağları, 1920'lerde böcekler ve kırmızı örümcekler üzerinde kullanılmıştır. 1940'larda DDT gibi organoklorlu insektisitler ve 2,4-D, gibi fenoksi asit herbisitler, 1950'lerin sonunda ise atrazine gibi triazine herbisitler piyasa sürülmüş ve sıklıkla kullanılmışlardır. 1940 ve 1950'li yıllarda

yoğun olarak kullanılan DDT, methoxychlor, chlordane, heptachlor, aldrin, dieldrin, endrin, toxafen, mirex ve lindane gibi organoklorlu insektisitlerin 1972 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde yasaklanmasının ardından organofosfatlı pestisitler bu bileşiklerin yerini almaya başlamıştır [Cope vd., 2004].

Dünyada pestisit üretim miktarı yıllık 3 milyon ton, satış tutarı ise 25-30 milyar \$ arasında değişmektedir. Herbisitler kullanım oranı bakımından tarım ilaçları içinde % 47'lik bir payla ilk sırayı almaktadır. Bunu % 29 ile insektisitler izlemekte, fungusitlerin ise % 19'luk bir payı bulunmaktadır [Tiryaki vd., 2010].

Ülkemizde ise pestisit tüketimi etken madde olarak, 1979 yılı ile karşılaştırıldığında 2002 yılında % 45,29'luk bir artış göstermiştir. Bu artışa karşın ülkemizde pestisit kullanımı gelişmiş ülkelere göre oldukça düşüktür. Ancak, entansif tarım yapılan Akdeniz, Ege ve Marmara bölgelerindeki pestisit kullanımının gelişmiş ülkeler düzeyine yaklaştığı görülmektedir [Delen vd., 2005].

Pestisitlerin içerdiği aktif maddelerin kimyasal yapıları geniş çeşitlilik gösterir. Bu da pestisitlerin basit şekilde sınıflandırılmasını engeller. Kimyasal yapılarına, toksik etki derecelerine ve içerdiği etken maddelere göre sınıflandırılabilirler gibi üzerine etki ettiği canlı formu baz alınarak da kategorize edilebilirler [Plimmer, J. R., 2001]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) pestisitleri; 1- İnsektisitler (böcekler üzerinde etkili olan tarım ilaçları), 2- Herbisitler (istenmeyen otlar üzerinde etkili olan tarım ilaçları), 3- Fungusitler (küf ve mantarlar üzerinde etkili olan tarım ilaçları), 4- Rodentisitler (fare, sıçan vs., gibi kemirgenler üzerinde etkili olan tarım ilaçları), 5- Fumigantlar (toprak nematodları üzerinde etkili tarım ilaçları) olarak sınıflandırmaktadır [WHO, 2008].

Pestisit grubu içinde yer alan insektisitler ise içerdiği etken maddelerin kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılırlar. İnsektisitler; organoklorlular, organofosfatlılar, karmabadlar, bitkisel böcek ilaçları, piretroitler ve fipronil gibi yeni nesil böcek ilaçları olarak gruplandırılırlar [Cope vd., 2004].

Pestisitler zararlı organizmaların kontrolünde etkilidirler. Belli bir dozun üzerinde hepsi toksiktir, aksi halde amaçlarına hizmet edemezler [Criswell vd., 1991]. İdeal pestisit, hedef organizma üzerinde etkili olup hedef dışı canlılara zarar vermemelidir. Gerçekte ise durum böyle olmaz. Zararlı haşereler ile mücadelede kullanılan pestisitler sucul ekosistemlere karışarak besin zincirine girerler ve bu

sayede hem insanlara hemde hedef dışı canlılara zarar verirler [Cope vd., 2004]. Pestisitlerin, ölüm ile sonuçlanan direk toksik etkilerinin yanı sıra, kanserojenik, genetik mutasyonlara yol açan, deri lezyonlarına neden olan, üreme ve endokrin sistemi bozan etkileri mevcuttur [Lorenz, 2006].

Son yıllarda pestisitlerin, üreme ve endokrin sistemi bozan etkilerinden bahsedildikçe literatürde karşımıza sıkça “endokrin bozucu kimyasallar” çıkmaktadır. Endokrin bozucu kimyasallar (EB), 2002 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından; “bir organizma, ya da o organizmanın alt-popülasyonlarında endokrin sistemi bozan dolayısıyla sağlık üzerinde olumsuz etki oluşturan maddeler” olarak tarif edilmiştir [Goksoyr, 2006]. EB’ların etki mekanizmaları, 3 grup altında incelenebilir, bu mekanizmalar; (1) agonistik/antagonistik etki (hormon taklitçileri), (2) doğal hormonların üretimini, taşınmasını, metabolizmalarını ya da salgılanmalarını bozucu etki ve (3) hormon reseptörlerinin üretimini veya fonksiyonunu bozucu etkidir [Dawson, A., 2000, Rotchell ve Ostrander, 2003].

EB maddeler östrojenik etki göstererek, cinsiyet steroidlerinin yapılarını bozarlar ve omurgalılarda feminizasyona neden olurlar [Kloas ve Lutz, 1999]. Bunun yanı sıra sucul canlılar üzerinde zamansız vitellojenin (VTG) üretimi, gerilemiş yumurta ve testis gelişimi, kanda anormal steroid hormon seviyeleri, interseksüalite, yumurta atrezisinde artış, düşük yumurta ve döl verimi ve büyümede gerilik gibi etkiler oluştururlar [Jobling ve Tyler, 2003].

2.2. ORGANOFOSFATLI BİLEŞİKLER (OF)

Organofosfatlı bileşikler (OF) kimyasal maddeler içinde geniş yer kaplayan bir gruptur. İlk kez 1800’lü yılların başında Lassaigne tarafından fosforik asidin alkol ile tepkime edilmesiyle sentezlenmişlerdir [Kazemi vd., 2012]. Yüksek anti-AChE (asetikolinesteraz) potansiyeline sahip ilk OF, tetraethyl pyrophosphate (TEPP) 1854 yılında Clermont tarafından sentezlenmiştir. 1932 yılına gelindiğinde ise Lange ve Krueger dimethyl ve diethyl phosphorofluoridate’ın sentezlendiğini bildirmişlerdir. Dimetil ve dietil fosforofloridat’ların solunmasının kalıcı boğulma hissi ve bulanık görme gibi sonuçlara yol açmasının ardından Schrande yaklaşık olarak 2000 bileşik

üzerinde çalışma yapmış ve OF'ın insektisit olarak kullanılabileceğini belirtmiştir. Bu süreçte keşfedilen parathion, daha sonra dünyada en çok kullanılan OF pestisit olmuştur [Taylor, 2006].

Genelde pestisit olarak kullanılan OF, ısı düşürücü (termoplastik vs.'de), anti-paraziter ilaç (hekimlikte) ve İkinci Dünya Savaşı sırasında sinir gazı, olarak da kullanılmıştır [Gupta, 2006]. Schrender ve ekibi İkinci Dünya Savaşı sırasında parathiondan daha toksik olan sarin, soman ve tabun gibi kimyasal savaş ajanlarını sentezlemiş ve Alman Hükümeti bu durumu kamuoyundan gizli tutmuştur. Bunun üzerine Müttefikler Lange ve Kruger'in araştırmalarından faydalanmış ve McCombie ve Saunder tarafından diisopropyl phosphorofluoridate (DFP) sentezlemiştir [Taylor, 2006].

Bütün OF'larda fosfor atomu ile karakteristik fosforil bağı (P=O) ya da tiyofosforil bağı (P=S) bulunur. Esasında OF'lar, fosforik asidin esterleri olup farklı kombinasyonlar ile karbon, sülfür ve nitrojen atomuna bağlanan bileşiklerdir. Her ne kadar kimyasal yapıları çok karışık ve sınıflandırmaları basit olmasa da, temel olarak; fosfor atomuna bağlı yan zincirlerin açısına ya da nereden bağlandığına bakılarak sınıflandırılırlar [Gupta, 2006].

Şu an bilinen ve kullanımda olan 100'e yakın OF bileşik vardır ve hepsi fosforik, fosfonik ve fosfinik asidin türevlerinden sentezlenmiştir [Stoytcheva ve Zlatev, 2011]. Fosforik ve fosfonik asit içeren gruplar anti-asetikolinesteraz aktivitesine sahip olup, fosfinik asit içeren gruplardan ayrılırlar [Gupta, 2006].

Birçok organofosfatlı pestisit yapılarında fosfora çift bağla bağlanmış sülfür atomu vardır. Toksik hale gelebilmeleri için metabolik aktivasyon ile oksonlara dönüşmeleri, yani yapılarındaki P=S grubunun P=O grubuna dönüşmesi gerekir. Çünkü, yalnızca yapılarında P=O grubu bulunan organofosfatlı bileşikler asetilkolinesterazı baskılayabilir. "Oksidatif desülfürasyon" olarak adlandırılan ve karaciğerde mikrozomal sitokrom P450 enzimleri tarafından katalizlenen bu biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda organofosfatlı pestisitler toksik hale gelirler [Demirdöğen, 2010].

2.3. ORGANOFOSFATLI PESTİSİTLER

OF, pestisitler arasında en yaygın kullanılan kimyasallar olup metabolitleri çok geniş popülasyonlar üzerinde etkilidir [Aprea vd., 2000, Barr vd., 2004, Curl vd., 2003]. Doğada uzun yıllar kalabilen DDT gibi organoklorluların 70'li yıllarda yasaklanmasının ardından, OF'ların kullanımı artmaya başlamıştır [Elersek ve Filipic, 2011]. 80'li yıllarda Amerika'da 100.000 ton olan insektisit kullanımının % 57'sini OF pestisitler oluşturmuştur. Gerek pestisit kullanımına getirilen yerel ve genel kısıtlamalar, gerekse çevresel tepkiler bu yıllardan sonra insektisit kullanımını hızla düşürmüştü fakat OF'ın kullanım oranını hızla arttırmıştır. 2000'li yılların başında Amerika Birleşik Devletlerinde ki toplam insektisit kullanımının % 70'inde etken madde olarak OF tespit edilmiştir [Grube vd., 2011]. Çizelge 1'de Amerika Birleşik Devletlerinde 1980-2007 arası insektisit kullanım miktarları ve bu miktar içerisindeki OF'ların oranı görülmektedir.

Çizelge 2.1. 1980 – 2007 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde OF insektisit kullanım oranı [Grube, 2011].

Year	All Insecticides	Organophosphate Insecticides	
	Mil lbs	Mil lbs	% of All Insecticides
1980	228	131	57
1985	161	114	71
1990	121	85	70
1991	114	82	72
1992	116	84	72
1993	115	79	69
1994	124	83	67
1995	125	80	64
1996	116	75	65
1997	112	73	65
1998	103	66	64
1999	126	91	72
2000	122	88	72
2001	105	73	70
2002	130	59	45
2003	115	46	40
2004	114	46	40
2005	104	40	39
2006	99	37	38
2007	93	33	35

En yaygın kullanılan 10 organofosfatlı pestisit etken madde olarak; malathion, chlorpyrifos, terbufos, diazinon, methyl-parathion, phorate, acephate, phosmet, azinphosmethyl ve dimethoate içermektedir [Kiely vd., 2004].

Chlorfenvinphos (Birlane[®]), memeliler için oldukça toksik olup, tarımsal alanda toprakta yaşayan kök kurtçuklarına karşı kullanılmaktadır [Kime, 1998].

Diazinon, Birleşik Krallık'ta koyunların bit, kene ve uyuz tedavisinde kullanılmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde ev ve toprak böceklerini, meyve, sebze, süs bitkisi, çim ve tarla bitkilerinde ise haşereleri kontrol etmek amacıyla kullanılmaktadır [Kime, 1998].

Disulfoton (Dimez[®], Di-syston[®], Disytox[®], Frumin[®], Solvirex[®]) Tütün, havuç, salatalık, patates, maydanoz ve bezelye böceklerine karşı kullanılır. İnsan sağlığına zararlarından dolayı WHO tarafından oldukça zararlı ve tehlikeli kabul edilmektedir. Yarılanma-ömrü kısa olup 5-12 saattir [Kime, 1998].

Fenitrothion (Sumithion[®]), Asya ve Avrupa'da en yaygın kullanılan tarımsal insektisit olup, Kuzey Amerika'da sınırlı bir kullanıma sahiptir [Kime, 1998].

Fenthion (Lebaycid[®], Bayrex[®]), meyve sineklerine ve tropikal tatlı sularda yaşayan *Anopheles*, *Culex* ve *Simulium* larvalarına karşı oldukça etkilidir. Kuşlar için oldukça toksik olup, aylarca toprakta kalabilmektedir [Kime, 1998].

Glyphosate (Roundup[®]) oldukça yaygın kullanılmakla birlikte, genetiği değiştirilmiş bitkilerin bu herbisite direncinden dolayı kullanımının daha da artması beklenmektedir. Glyphosate diğer organofosfatlılardan farklı olarak asetikolinesteraz inhibitörü olmayıp, glutamine sentez inhibitörüdür. Balıklar için düşük toksisiteye sahip olup, zararlı etkilerinin nedeni etken madde içeriğinden değil formülasyonundan kaynaklanmaktadır [Kime, 1998].

Malathion (Cythion[®]) memeliler tarafından hızla metabolize edilen aktif malaoxona dönüşür. Aktif malaoxon sinekler tarafından yavaş metabolize edilir bu yüzden oldukça toksiktir. Memelilerde toksisitesinin düşük olmasından dolayı evlerde ve çiftlik hayvanlarında parazit ve sineklere karşı kullanılmaktadır [Kime, 1998].

Methyl-parathion, parathiona benzer aktivite gösterir. Memelilerde toksisitesi düşük olup narenciye ve pamuk üretiminde parathionun yerine kullanılır. 1971

yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde 13.000 ton miktarında kullanılmıştır [Kime, 1998].

Mevinphos (Phosdrin®) hasata yakın zamanlarda meyve ve tarım bitkilerinde zararlı böceklere karşı kullanılır. Yarılanma ömrü kısadır [Kime, 1998].

Monocrotophos (Azodrin®), sebze ve pamuk haşerelerine karşı kullanılan geniş spektrumlu bir insektisit olup, aylarca toprakta kalabilmektedir [Kime, 1998].

Parathion, Kuzey Amerika'da en yaygın kullanılan ve en toksik insektisittir. Uygulandıktan bir yıl sonra bile toprakta kalıntılara rastlanabilir. Kök kurtçuklarına ve yaprak böceklerine karşı kullanılır [Kime, 1998].

Temephos (Abate®), sivrisinek, karasinek, tatarcık ve kum sineği larvalarının kontrolünde kullanılan önemli bir pestisittir [Kime, 1998].

Tetrachlorvinphos (Stirofos®, Gardona®), memeliler için toksisitesi düşüktür ve chlorfenvinphosa göre toprakta daha kısa süre kalır [Kime, 1998].

Çizelge 2.2. 2001 - 2007 arasında Amerika Birleşik Devletlerinde en yaygın kullanılan OF insektisitler ve kullanım oranları. Kullanım oranları Million of Pound biriminde verilmiştir [Grube vd., 2011]

Active Ingredient	2007		2005		2003		2001	
	Rank	Range	Rank	Range	Rank	Range	Rank	Range
Chlorpyrifos	1	8-11	2	7-9	2	9-11	2	11-16
Malathion	2	5-9	1	11-13	1	11-13	1	23-32
Acephate	3	4-6	3	4-6	5	2-4	5	2-3
Naled	4	1-2	5	1-2	7	1-2	—	—
Dicrotophos	5	1-2	7	1-2	—	—	—	—
Phosmet	6	1-2	4	1-2	6	1-2	8	1-2
Phorate	7	1-2	6	1-2	9	1-2	6	2-3
Diazinon	8	<1	8	<1	3	3-5	3	4-7
Dimethoate	9	<1	10	<1	—	—	10	1-2
Azinphos-Methyl	10	<1	9	<1	8	1-2	9	1-2

OF, genel etkilerini merkezi ve periferik sinir sisteminde bulunan asetikolinesteraz (AChE) enzimini inhibe ederek gösterirler. AChE enzimi genellikle iki tip olarak bilinmektedir. Bunlar asetilkolin esteraz ve butirilkolin esterazdır.

Balıklarda beyin ve kas dokuları genellikle asetilkolin esteraz bulundururken, karaciğer ve plazma genellikle butirilkolin esteraz içermektedir. Bununla birlikte bazı balık türlerinde kas dokuda da butirilkolin esteraz aktivitesi tanımlanmıştır [Fulton ve Key, 2001]. AChE normalde, sinapslarda bulunan asetikolini hızlıca indirger. AChE inhibisyonu, postsinaptik hücrelerde ya da merkezi sinir sisteminde bulunan asetikolin reseptörlerinin arka arkaya uyarılmasına neden olur. Buda asetikolinin aşırı birikimine neden olur. Asetikolinin aşırı derecede birikimi, otonomik disfonksiyon (solunum sisteminde, boşaltım sisteminde, tükürük ve gözyaşı bezlerinde aşırı salgılanma), istem dışı hareketler (titreme, konvülsiyonlar), kas seğirmeleri ve solunum yetmezliği gibi semptomlara neden olur [Pope, 1999]. OF ayrıca kolinerjik hareket üzerine etki ederek reseptör ve sinyal iletişimini bozarlar. Buda beynin endokrin sistem üzerine etki eden mekanizmalarını bozar. OF'ın anti-androjenik etkisi hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen üzerine etki eder. Östrojenik yada anti-androjenik etki gösterebildikleri gibi, androjen reseptörlerine bağlanarak antagonist etki de gösterebilirler [Kime, 1998].

Yapılan birçok çalışmada organofosfatlı pestisitlerin EB etki gösterdiği biyokimyasal ve histolojik değerlendirmeler ile ortaya konmuştur [Tyler vd., 1999, Dutta ve Maxwell, 2003, Dutta ve Meijer, 2003, Dutta vd., 2005, Holbeck, vd., 2006, Dang vd, 2011, Dawson, 2000, Kitamura vd, 2003, Goad vd, 2004, Hotchkiss vd., 2008].

2.4. DİAZİNON

Diazinon [O,O-diethyl O- (2-isopropyl 1-6-methyl - 4 pyrimidinyl) phosphorothioate], pestisit grubu içinde yer alan, Dünya'da ve ülkemizde kullanımı yaygın olan bir insektisittir. Organofosfatlı insektisitleri içinde yer alan diazinon, topraktaki zararlı böcekler ile mücadelede, süs bitkilerinde, meyve ve sebze tarlalarında kullanılır. Bunun yanı sıra evlerde ve bahçelerde sinek, hamamböceği, pire gibi zararlı haşereler ile mücadelede de kullanılır. Sentetik bir kimyasal olup, doğada doğal halde bulunmaz. Saf diazinon renksiz ve neredeyse tamamen kokusuzdur. Zirai mücadelede kullanılan preparasyonların % 85 ila % 90'ı diazinon içerir ve soluk kahverenkli bir sıvı görünümündedir. Eskiden ev ve bahçelerde kullanılmak üzere satılan sıvı ya da tablet kapsüllerin % 1 ila % 5'inin diazinon

içerdiği bilinmektedir [ATSDR, 20011]. Kimyasal formülü $C_{12}H_{21}N_2O_3$ PS'dir (Şekil 2.1)



Şekil 2.1. Diazinonun kimyasal yapısı

Ticari olarak “Knox-Out”, “Dianon” ve “Basudin” gibi isimler ile piyasada satılmakta ve ABD Çevre Koruma Örgütü (EPA)’nın 2004 yılında yayınlanan raporuna göre balıklar için oldukça toksik olduğu belirtilmektedir [EPA, 2004]. Bunun yanı sıra, diazinon, Dünya’da halk sağlığı çalışmalarında ve veteriner hekimliğinde özellikle ektoparazitler ile mücadelede de kullanılmaktadır [Watterson, 1999]. Ayrıca balık çiftliklerinde kontrolsüz olarak üremiş zooplanktonlara (Dafnia vb.) karşı da kullanıldığı belirtilmektedir [Machova ve ark., 2007]. Diazinon, çok çabuk indirgenebilir, ancak, düşük sıcaklık, düşük nem, yüksek alkalinite ve bazı uygun mikrobiyel indirgeyicilerin eksikliğinde toprakta 6 ay ya da daha uzun süre biyolojik olarak aktif kalabilmektedir. Diazinon meyve ve sebze tarımında kullanımı sonrasında kolaylıkla yüzey sularına ve yer altı sularına karışabilmektedir [Dutta ve Meijer, 2003]. Ansari ve Kumar [1998] tarafından yapılan bir araştırmaya göre Amerika Birleşik Devletleri’nin birçok akarsuyunda önemli oranda diazinon bulunmakta ve bu sebepten dolayı omurgasız, memeli, kuş ve balık gibi hedef dışı birçok organizmayı da büyük oranda etkileyebilmektedir [Dutta ve Meijer, 2003].

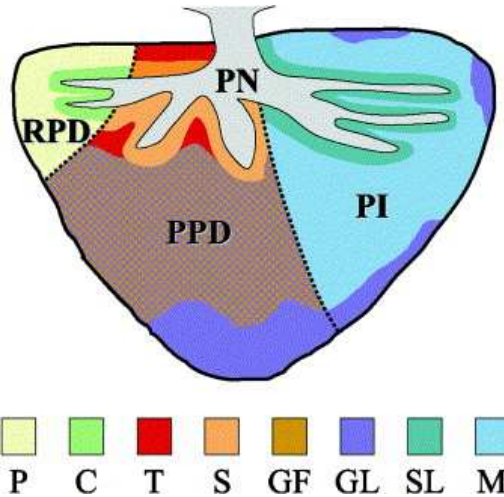
Geçmişte diazinonun EB özellik gösterdiğine dair veri olmadığı rapor edilmiştir [JPR, 2000, NPIC, 2009]. Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı (ATSDR), 2008 yılında yayınladığı raporda endokrin sistemin diazinon toksisitesine hassas olamayabileceğini açıklamıştır [ATSDR, 2008]. EPA, 2012 Kasım ayında

yayınladığı raporda diazinonun “Endokrin Bozucu Kimyasalları İzleme Liste” nde olduğunu ve EB potansiyel taşıdığını belirtmiştir [EPA, 2012]. Diazinonun EB özellik gösterdiğine dair veriler ise literatürde bulunmaktadır [Alahyary, 2008, Bisson ve Hontela, 2002, El-Aziz vd., 1994, El-Mazoudy ve Attia, 2012, Fattahi vd., 2009, Jamili vd., 2008 Johari vd., 2010, Larkin ve Tjeerdema, 2000, Manabe vd., 2006, Maxwell ve Dutta, 2005, Moore ve Waring 1996, Pope, 2006, Zidan, 2009]

2.5. TELEOSTLARIN ENDOKRİN SİSTEMİ ve STEROİD HORMONLAR

2.5.1. Hipotalamik – hipofiz eksenini

Bilinen yaklaşık 25.000 balık türü kendi arasında altı temel gruba ayrılır bunlar; yuvarlak ağızlılar (cyclostomata), kıkırdaklı balıklar (chondrichthyes), ciğerli balıklar (dipnoi), kıkırdak kemikliler (chondrostei), tümbaşlılar (holostei) ve gerçek kemikliler (teleostei)'dir. Teleostlar tüm balık türlerinin % 95'ini ve omurgalıların neredeyse yarısını kapsamaktadır. Balıkların endokrin sistemi üzerine yapılan araştırmalar genelde salmonidler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunun harici bazı ekonomik değeri olan türlerde de çeşitli araştırmalar yapılmaktadır [Kime, 1998].



Şekil 2.2 Atlantik pisibalığı hipofizinin sagittal görünümü. RPD, rostral pars distalis ; PPD, proksimal pars distalis ; PI, pars intermedia; PN, pars nervosa; P, laktotroplar; C, kortikotroplar; T, thirotroplar; S, somatotroplar; GF, FSH-üretim gonadotropları; GL, LH-üretim gonadotropları; SL, somatolaktotroplar; M,melanotroplar [Weltizen vd.,2004].

Hipotalamus ve hipofiz bezi bütün endokrin sistemi beraber regüle ettikleri için, herhangi bir kirleticiden gelecek en ufak bir etki, bütün bir organizmayı olumsuz yönde etkileyecektir. Hipotalamus, vücut homeostazisi ve dış ortamdan gelen sinyallerin beyin tarafından algılanıp, hipofize hormon sentezi ve salınımı için gereken komutların verildiği temel merkezdir. Hipofiz iki farklı orijinden türemiş iki farklı bölümden oluşur. Bunlar; nörohipofiz ve adenohipofizdir. Hipotalamus, nörohipofizi sinir sistemi üzerinden direkt uyarır ve su ile tuz dengesinin korunmasını sağlayan isotosin ve arjinin vazotosin (AVT) hormonlarının salgılanmasını sağlar. Hipofizin pars distalis (adenohipofizin bir bölümü) kısmı ise hipotalamus tarafından salgılanan salıverme hormonları tarafından stimüle edilir ve adrenokortikotropin (ACTH), tiroid stimüle edici hormon (TSH) ve gonadotropinlerin (GtH-I ve GtH-II), kortikotrof, thirotrof ve gonadotroflardan salgılanmasını sağlar. ACTH, TSH ve GtH sırasıyla interrenal, tiroit ve gonadlar üzerinde etkilidir. Hipofiz ayrıca büyüme hormonu (somatotropin), melanosit stimüle edici hormon (MSH) ve prolaktini salgılar. Birçok kirleticinin balıklardaki üreme sistemi üzerine olan etkileri direkt olarak gonad üzerinden değil çoğunlukla hipotalamus – hipofiz eksenini üzerinden gerçekleşmektedir [Kime, 1998].

2.5.2. Gonadal hormonlar

Mevsimsel ve lokal faktörlerin etkisiyle beyinden gelen sinyaller hipotalamik-hipofiz sistemi uyarır. Hipotalamus tarafından salınan salıverme hormonları, (gonadotropin salgılatıcı hormonu, GnRH; kortikotropin salıverme hormonu, KRH; tirotropin salıverme hormonu, TRH) hipofizi uyarır ve hipofizden peptit hormonları salınmaya başlar. Peptit hormonları, gonadlar, interrenal doku ve tiroit bezini uyararak ve buralardan hormon salınmasına neden olur. Memelilerde, iki gonadotropin hormonu, lüteinleştirici hormon (LH) ve folikül stimüle edici (FSH) hormon arasındaki denge üreme döngüsünün düzenlenmesinde önemlidir. Balıklarda ise gonadotropin sayısı hakkındaki tartışmalar devam etmektedir. Bütün türlerde olmasa da genellikle gonadotropin-I (GtH-I) ve gonadotropin-II (GtH-II) adıyla bilinen iki hormon mevcuttur. Bu hormonlar vitellojenez, spermatojenez, steroid sentezi ve vitellojeninin oositler tarafından geri alınmasından sorumludur.

Gonadotropinin balıklardaki temel rolü gonadların uyarılması ve steroid hormonlarının salınımının sağlanmasıdır. Buda ikincil seksüel karakter gelişimi, gamet olgunlaşması, kur davranışı ve en sonunda yumurtlamaya neden olur [Kime, 1998].

Steroid hormonlarının etkileri balıklarda memelilere göre bariz farklılıklar gösterir. Erkek balıklarda, 11-ketotestesteron (11-KT) gonadal ve ikincil seksüel karakter gelişiminden sorumlu baş hormondur. T (memelilerdeki “erkeklik” hormonu) her iki cinsiyette de salgılanmasına rağmen fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. E2 ise dişilerdeki temel hormon olup gelişen oositlerin foliküllerinde üretilir. Foliküller testesteronun üretildiği teka kısmı (dışta) ve testesteronun estradiole dönüştürüldüğü granüloza kısmı (içte) olmak üzere iki bölümden oluşur. E2'nin ana görevi karaciğeri stimüle ederek VTG üretimini başlatmaktır. Üretilen VTG daha sonra gelişen oositlere geçerek gonadal ağırlık artışına neden olur [Kime, 1998].

Progesteronun balıklardaki rolü bilinmemektedir, fakat progesteronun olgunlaşma sürecinde yumurtlamayı başlattığı düşünülmektedir. Balıklarda iki farklı progesteron vardır. Bunlar; 17,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20 β P) ve 17,20 β ,21-trihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20 β ,21P)'dir. Her iki progesteronda fonksiyonel olarak diğer canlı türlerinde oosit olgunlaşması sırasında görev alan kortikosteroidler ile benzerlik göstermektedir [Kime, 1998].

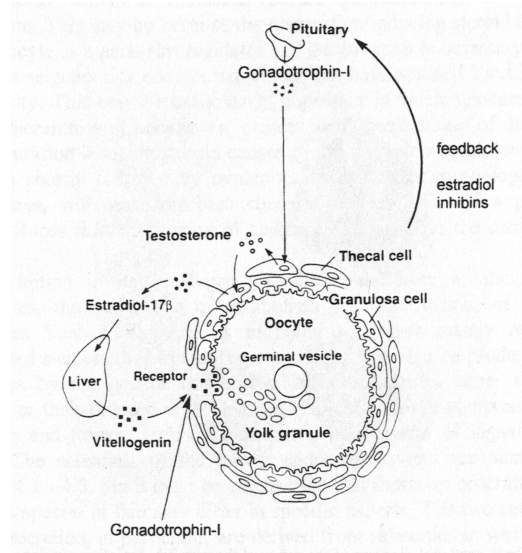
Dişilerde, karşı cinsin kur yapması ile başlayan oositlerin olgunlaşma süreci gonadotropin etkisi altında germinal vezikülün, oositin perifer kısmına göçü ile devam eder. Gonadotropin daha sonra folikülün teka katmanını uyararak, 17-hidroksiprogesteron'un üretilmesini sağlar. 17-hidroksiprogesteron granüloza hücreleri tarafından olgunlaşmayı başlatacak steroidlere dönüşür. Olgunlaşmayı tetikleyen steroidler germinal vezikül kırılmasına (GVBD)'a neden olur ve bunu ovülasyon takip eder [Kime, 1998].

Erkeklerde ise T ve/veya 11-KT gonadal tekrarlanım sürecinde görev alır. Gonadotropin ise progesteron üretimini tetikler, buda spermilerin olgunlaşma sürecini başlatır. Progesteron balık spermının kompozisyonunu nasıl olacağını belirler. Spermatojenez'in son aşamalarına doğru kandaki 17,20 β P seviyesi belirgin şekilde

artar ve testosteronun, 11-ketotestesterona dönüşümü gerçekleştirir [Hentschel vd., 2000].

2.6. VİTELLOJENEZ

VTG, balık gibi ovipar üreme gösteren omurgalıların karaciğerlerinde üretilen ve yumurta sarısının öncüsü olan bir fosfolipoplikoproteindir. Cinsel olgunlaşma döneminde, dişi balıklar gonadlarında E2 sentezlerler ve E2, estradiol reseptörlerine bağlandığı yerde hepatositler tarafından alınarak, VTG transkripsiyonu sırasında öncü görev üstlenir. VTG proteini salgı kanallarında bulunan hücreler tarafından modifiye edilir ve salgılanır ardından büyümekte olan oositler tarafından reseptör-aracılı endositoz ile dolaşıma katılır [Nilsen vd., 2003]. Dişi balıkların üreme döneminde hızla artan vitellojenin, erkek bireylerde ise östrojenin azlığından dolayı çok düşük oranlardadır. Ancak erkek bireylerin doğal ya da sentetik östrojenlere maruz kalması durumunda ise çabucak indüklenebilir [Sumpter ve Jobling, 1995].



Şekil 2.3. Balıklarda vitellojenez kontrolü [Kime, 1998].

2.7. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Balıklarda EB kimyasalların etkilerinin belirlenmesinde sıkça kullanılan yöntemler plazma VTG ve steroid hormon (T ve E2) seviyelerinin ölçülmesidir [Arukwe ve Goksøyr, 2003, Oberdörster ve Cheek, 2001, Jobling ve Tyler, 2003, Kime vd., 1999, Kirby vd., 2004, Matthiessen, 2003, Petrovic vd., 2009, Porte vd., 2006 Tyler vd., 1998, Tyler vd., 1999, Arcand-Hoy ve Benson, 1998, Folmar vd., 2001, Goodbred vd., 1997, Lavado vd., 2004, Scholz ve Mayer, 2008, Wu vd., 2003].

Diazinona (60 µg/L) maruz kalan *Lepomis macrochirus*'larda serum E2 seviyeleri ölçülmüş ve diazinonun E2 seviyelerini azalttığı, ovaryumda da morfolojik hasara neden olduğu belirtilmiştir [Maxwell ve Dutta, 2005].

Diazinona maruz kalan dişi *Chalcalburnus chalcoides*'lerin serum östrojen seviyelerinin belirgin şekilde düştüğü belirtilmiştir [Jamili vd., 2008].

In vitro bir çalışmada diazinonun östrojenik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir [Manabe vd., 2006].

Diğer bir in vitro çalışmada diazinonun *Oncorhynchus mykiss*'lerin adrenokortikal hücre kültürlerinde kortizol salınımını inhibe edici özellik gösterdiği bildirilmiştir [Bisson ve Hontela, 2002].

Subletal dozlarda (0.3, 0.8, 1.7, 2.7, 5.6, 13, 28 ve 45 µg/L) diazinona maruz kalan Atlantik salmonlarının plazmalarında progesteron (20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one), testesteron ve gonadotropin II seviyelerinin düştüğü belirtilmiştir [Moore ve Waring, 1996].

Iqbal ve Mufti (1992), 30 gün boyunca diazinona maruz kalan balıklarda gonadal gelişim ve gonadosomatik indeks (GSI)'de belirgin düşüş tespit etmişlerdir [Larkin ve Tjeerdema, 2000].

Diazinona maruz kalan erkek ve dişi *Brachydanio rerio*'ların gonadlarında progesteron konsantrasyonunun düştüğü, spermatojenezin azaldığı belirtilmiştir [Wall, 1999].

Anabas testudineus, *Channa punctatus* ve *Barbodes gonionotus* türlerinde farklı konsantrasyonlarda diazinon uygulamalarının karaciğer ve böbrek dokularında önemli histopatolojik bulgular oluşturduğu tespit edilmiştir [Rahman vd., 2002].

Hazar Denizi'nde yaşayan bir balık türü olan *Rutilus frisii kutum*'da diazinonun farklı derişimlerinin, testis dokusunda histopatolojik değişikliklere neden olduğu ve aynı zamanda üreme hücreleri sayıları ile sperm motilitesinde farklılıklara neden olduğu belirlenmiştir [Mousaleh vd., 2011].

Diazinona maruz kalan dişi *Lepomis macrochirus*'ların ovaryum zarlarının incelendiği, yumuşadığı ve bazı bölgelerde çatlaklar ve fonksiyon kayıplarının olduğu bildirilmiştir. Ayrıca ovaryumların tunica albuginea katmanında, lamellar yapıda ve ovaryum duvarında histolojik hasarların yanı sıra, yoğun atrezilerin varlığı tespit edilmiştir [Dutta ve Maxwell, 2003].

Diazinona subletal dozlarda maruz kalan erkek *Lepomis macrochirus*'ların testis dokularında oluşan histopatoloji incelendiğinde, pestisit farklı sürelerde farklı etkiler geliştirdiği belirlenmiştir. Spermatid sayısında azalma, seminifer tübüllerde genişlemeler, tübülleri çevreleyen bağdokuda ve miyoid hücrelerde azalmalar tespit edilmiştir [Dutta ve Meijer, 2003].

Diazinona 28 gün süresince maruz kalan *Oncorhynchus mykiss*'lerin karaciğerleri incelenmiş ve hepatositlerde hipertrofi ile hücre sitoplazmasında vakuolizasyonlar rapor edilmiştir [Banaee vd., 2013a].

Diazinona maruz kalan erkek farelerde plazma testesteron seviyelerinde düşüş, genital organlarda ağırlık azalışı, anormal spermatozoaya bağlı olarak sperm hareketliliğinde azalış rapor edilmiştir [El-Aziz vd., 1994].

Beş hafta boyunca diazinona (30 mg / kg) maruz kalan farelerde testis çapı ve ağırlığında azalış, düşük sperm sayısı, serum testesteron seviyesinde düşüş, leydig ve sertoli hücre sayılarında azalış, seminifer tübüllerde dejenerasyon, LH ve FSH seviyelerinde artış rapor edilmiştir [Fattahi vd., 2009].

5 ve 55 ppm dozlarda 65 gün boyunca diazinona maruz kalan farelerde serum LH, FSH ve testesteron seviyelerinde düşüş, GSI azalışı ve anormal sperm sayısında artış rapor edilmiştir [Zidan, 2009].

Diazinona (2 mg/kg/gün) maruz kalan erkek farelerin testis ağırlığında azalış, serum LH ve FSH seviyelerinde düşüş tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, 4.1 mg / kg dozda testesteron seviyesinin arttığı fakat 8.2 mg / kg dozda testesteron seviyesinin azaldığı belirtilmiştir [El-Mazoudy ve Attia, 2012].

28 gün süresince diazinona maruz kalan farelerde serum testesteron ve glikoz seviyelerinde artış rapor edilmiştir [Alahyary, 2008].

14 gün süresince diazinona maruz kalan dişi farelerin serum progesterone seviyelerinde azalış belirlenmişken LH, FSH ve östojen seviyelerinin değişmediği rapor edilmiştir [Johari vd., 2010].

90 gün süresince diazinona maruz kalan farelerin testislerinde, epitelyal vakuolasyonda ve genişlemiş kan damarlarının sayısında artış belirlenmiştir [Toman vd., 2012]

Jayachandra, (2003) tarafından yapılan bir çalışmada farklı gelişim dönemlerinde diazinona maruz kalan farelerin, ergenlik ve yetişkinlik dönemlerinde bazı yan etkilerin ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Bu farelerde ergenlik ve yetişkinlik döneminde testis ağırlığında düşüş ve dejenerasyon, 3- β -hidroksi dehidrojenez (HSD) seviyesinde azalış belirtilmiştir [Jayachandra, 2013].

Diazinona 32 gün boyunca maruz kalan farelerin seminifer tübül yüzeyi epitel doku uzunluğunda azalış olduğu belirtilmiştir [Sarabia vd., 2009].

24 mg / L dozda uygulanan organofosfatlı TEPA *Poecilia reticulata*'ların dişilerinde ovaryum fonksiyonlarında bir değişim oluşturmazken erkeklerde testiküler inhibisyona neden olmuştur [Kime, 1998].

4 gün süresince OF'lı quinalphos'a (0.025 mg / L) maruz kalan *Clarias batrachus*'ların testislerinde enzim aktivitesinde düşüşler tespit edilmiştir. Aynı etkiler OF'lı fenitrothion'a (0.3 mg / L) maruz kalan sazanlarda da belirlenmiştir [Kime, 1998].

OF'lı fenitrothion'a maruz kalan *Channa punctatus*'ların testislerinde kolesterol ve fosfolipit seviyelerinin indüklendiği ve gerileyen steroidojeneze bunun neden olduğu ifade edilmiştir [Kime, 1998].

2 ay süresince 53 μ g/L dozda OF'lı monocrotophos'a maruz kalan *Puntius conchoni*'larda atretik oosit sayısının arttığı belirlenmiştir. OF'lı methyl-paration'a (0.1 mg / L) maruz kalan *Rasbora daniconius*'larda ise ovaryum dokusunda belirgin hasar tespit edilmiştir [Kime, 1998].

7 μ g/L dozda OF'lı fenitrothion'a 5 gün süresince maruz kalan tilapyalarda GSI'de düşüşler, ovaryum dejenerasyonu, foliküler atreziler ve temiz suya bırakıldıktan dokuz hafta sonra bile yumurtlayamama gözlemlenmiştir [Kime, 1998].

OF'lı fenitrothion'a (1 mg / L) 30 gün süresince maruz kalan *Garamullya*'larda yine GSI'de düşüşler ile olgun oositlerde atreziler görülmüştür. OF'lı malathiona (2 mg / L) 6 ay boyunca maruz kalan *Channa punctatus*'ların ovaryum gelişiminde 3. ve 4. tip oositlerin atrezilere bağlı olarak gelişemediği belirlenmiştir. 20 gün süresince OF'lı malathiona (2 mg / L) maruz kalan *Oreochromis mossambicus*'larda olgun oositlerde atreziler gözlemlenmiştir. Benzer bulgular OF insektisitlerden, chlorfenvinphos (0.003 mg / L), tetrachlorvinpos (0.15 mg / L), mevinpos (0.00012 mg / L)'da da belirlenmiştir [Kime, 1998].

Subletal konsantrasyonlarda (5 µl/L) 4 hafta süresince OF'lı malathiona maruz kalan dişi *H. fosillus*'larda üreme dönemi sonrası ve dinlenme fazında T seviyeleri ölçülmüş ve kontrol grubuna kıyasla T seviyelerinde belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Aynı sonuçlar, E2 hormonu içinde bulunmuş fakat üreme dönemi öncesi ve üreme dönemi sırasında estrone (E1) hormonunun azaldığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada OF'lı malathionun, 17 α -hidroksiprogesterone (17 α -OHPg) hormon seviyelerini düşürücü yönde etki yaptığı tespit edilmiştir [Singh ve Singh, 1992].

Yapılan başka bir çalışmada OF'lı malathionun steroid hormon seviyelerini belirgin şekilde değiştirdiği saptanmıştır. 4 hafta süresince subletal seviyelerde (4 ppm) malathiona maruz kalan *Clarias batrachus*'larda serum T ve E2 seviyelerinin belirgin oranlarda düştüğü belirlenmiştir [Singh ve Singh, 1987].

OF'lı chlorprifos-ethyl'e maruz kalan *Clarias gariepinus*'ların karaciğerlerinde sinüzoidlerde genişlemeler, hemoraji, piknotik çekirdek, hücre sitoplazmasında vakuolizasyon, konjezyon ve nekrotik bölgelerin olduğu belirtilmiştir [Ogueji vd., 2007].

OF'lı chlorprifos-ethyl'e maruz kalan *Oreochromis mossambicus*'ların karaciğerlerinde vakuolizasyon, safra kanallarının genişlemesi ve nekrotik bölgelere rastlanıldığı bildirilmiştir [Aniladevi vd., 2008].

OF'lı dichlorvos'a maruz kalan *Cirrhinus mrigala*'ların karaciğerlerinde konjezyon, vakuolar dejenerasyon, karyoliz, karyoreksis, sinüzoidlerde dilatasyon ve çekirdek büyümesi gibi patolojilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir [Velmurugan vd., 2009].

OF'lı fenitrothion'a maruz kalan *Channa ounctatus*'ların karaciğerlerinde merkezi venalarda dilatasyon ve hidropik dejenerasyon, yağ asidi infiltrasyonu,

yangısal hücre toplanmaları, parenşimal vakuolasyon ve nekroz gibi durumların oluştuğu belirtilmiştir [Akhter, 2013].

OF'lı glyphosate'a maruz kalan *Piaractus mesopotamicus*'ların karaciğerlerinde sitoplazmik vakuolizasyon, lipid birikimi ve glikojen azlığı gibi bulgulara rastlandığı belirtilmiştir [Shiogiri, 2012].

OF'lı trichlorfon'a maruz kalan *Prochilodus lineatus*'ların karaciğerlerinde hepatositlerde piknoz, nekrotik alanlar, hücre çekirdeği ve çapında varyasyonların ortaya çıktığı bildirilmiştir [Rodrigues vd., 2001]

2.8. ÖNEMİ ve AMACI

Dünya'da ve ülkemizde özellikle tarım alanlarında pestisitlerin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Bilinçsiz şekilde kullanılan bu ilaçlar sucul ortamlara karışıp geniş alanlara yayılmakta ve ekosisteme ciddi zararlar vermektedir. Etkilerini sadece toksik değil aynı zamanda endokrin sistemi bozucu şekilde gösteren bu kimyasalların son dönemlerde yapılan doğa çalışmalarında sıkça görülen erkek bireylerde dişileşme ile ilişkilendirildiği görülmektedir. Laboratuvar koşullarında yapılacak olan bu çalışmada diazinonun EB etkisinin olup olmadığının belirlenmesi hem toplumsal gönenc hemde bilimsel birikim açısından anlamdır. Sucul kirliliğinin ortaya konması araştırmalarında son dönemlerde biyoindikatör kavramı yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Biyoindikatör olarak en çok biyokimyasal, fizyolojik ve histolojik indikatör kavramları kullanılmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada organofosfatlı bir pestisit olan diazinon'dan kaynaklanabilecek olası bir su kirliliği durumunda balıklarda oluşacak histolojik değişikliklerin indikatör bir veri olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceğinin ortaya konması amaçlanmaktadır. Bunun yanı sıra diazinonun su ürünleri yetiştiriciliğinde antiparaziter bir ilaç olarak kullanılması, oluşturabileceği olumsuz etkilerin tespit edilmesi açısından da önem taşımaktadır. Ayrıca söz konusu pestisitinin karaciğerde biyoindikatör bir veri olarak değerlendirilen VTG ve cinsiyet steroid seviyelerinde ne gibi değişikliğe neden olduğu ve EB etkisinin düzeyi araştırılacaktır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Çalışma materyali

Araştırmada kullanılan balık sayısı 36 adet deney ve 18 adet kontrol olmak üzere toplam 54 adettir. Balık türü olan *Cyprinus carpio*'lar, Devlet Su İşleri (DSİ) Adana 6. Bölge Müdürlüğünden temin edilerek 2 ay boyunca laboratuvar koşullarında adaptasyonları sağlanmıştır. Dinlendirilmiş çeşme suyu ile gün aşırı su değişimi yapılmış ve havalandırma merkezi sistem ile sağlanmıştır. Laboratuvar koşullarında, 12 saatlik aydınlık/karanlık periyodu sağlanmıştır. Balıklar, adaptasyon ve deney süresince, günde 2 defa vücut ağırlıklarının % 2'si kadar pond yem (Tetra® Pond Koi Sticks) ile beslenmiştir. Suyun fiziko-kimyasal özellikleri, sıcaklık 24 ± 1 °C, pH $7,30 \pm 0,20$, çözülmüş oksijen $7,10 \pm 0,12$ ppm ve sertlik $252,16 \pm 4,03$ ppm C_aCO_3 belirlenmiştir. Denemelerde kullanılan balıkların ortalama ağırlıkları $19,88 \pm 6,68$ ve ortalama boyları da $9,42 \pm 0,96$ cm olarak ölçülmüştür. Denemeler kontrollü olarak yürütülmüştür.

3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kitler

Çalışmada kullanılan rutin kimyasallar, Sigma-Aldrich'den satın alınmıştır. Testesteron (582701), östrojen (582251) ve Carp Vitellojenin (10004993) EIA kitleri Cayman Chemicals firmasından satın alınmıştır. Pestisit olarak Diazinon-Basudin®(Syngenta)'in 650 g/L'lik ticari formu kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Diazinon uygulaması

Deneyler iki tekrarlı olarak yürütülmüş ve her tekrarda 3 balık kullanılmıştır. Deneme süresince balıklar 114 cm x 114 cm x 38 cm fiberglas tanklarda tutulmuştur. *C. carpio*' da diazinonun 96 saat LC₅₀ değeri 9,76 mg / L bildirilmiştir [Ahmad, 2011]. Balıklar cinsiyetlerine göre iki gruba ayrılmış, gruplarda kendi aralarında iki farklı doz ve bir kontrol grubu oluşturmak için tekrar ayrılmışlardır. Birinci gruba 96 saat LC₅₀ değerinin % 5' i olan 0,488 mg / L, ikinci gruba ise 96 saat LC₅₀ değerinin % 10'u olan 0,976 mg / L subletal derişimleri 7, 15 ve 30 gün sürelerle uygulanmıştır. Akvaryum suları, pestisit derişimlerinde olabilecek değişimleri engellemek amacıyla 24 saat aralıkla değiştirilmiştir.

3.2.2. Kan ve doku örnekleri

Deneme süreleri sonunda her akvaryumdan rastgele alınan 3 balık fenoksi-etanol (Sigma Aldrich) ile bayıltılmış ve kuyruk yüzgeçlerinden alınan kan örnekleri santrifüj tüplerine alınmışlardır. Kan alma işleminden sonra balıkların karaciğer ve gonadları disekte edilmiştir.

Kan örnekleri +4 °C'de 3000 g, devirde 10 dakika santrifüjlendikten (Sigma 2-16 PK) sonra serumlar alınmış ve hormon analizinde kullanılana kadar -80 °C'de bekletilmiştir.

Kan alımından sonra karaciğer ve gonadlar disekte edilmiş ve histolojik inceleme amacıyla % 10'luk nötral formalin solüsyonuna aktarılmıştır.

3.2.3. Testesteron analizi

Serum T seviyelerinin belirlenmesinde ticari kit (Testosterone EIA kit, Cayman, USA) kullanılmıştır. Kit protokolüne göre hazırlanan standart ve örneklerden 50 µl

alınarak 96 kuyucuklu mikrolaklara eklenmiştir. EIA Buffer'dan 100 µl alınarak Non-Spesifik Binding (NSB) kuyularına, 50 µl alınarak Maximum Binding kuyularına eklenmiştir. Testosterone AChE Tracer'dan 50 µl alınarak Total Activity (TA) ve Blank (Blk) kuyuları hariç tüm kuyulara eklenmiştir. Daha sonra Testosterone EIA Antiserum'dan 50 µl alınarak TA, Blk ve NSB hariç tüm kuyulara eklenerek oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda 2 saat boyunca inkübasyonu yapılmıştır. İnkübasyon sonunda yıkama tamponuyla kuyular 5 sefer yıkanmıştır. Tüm kuyulara 200 µl Ellman's Reagent eklemiştir. Tracer'dan 5 µl alınarak TA kuyularına eklenmiştir. Plastik film ile kaplanan mikrolakların karanlık odada orbital çalkalayıcıda 90 dakika boyunca inkübasyonu beklenmiş ardından 405 nm dalga boyunda Mikroplate Elisa okuyucu (Diagnostic Pasteur, LP 400, Germany) ile okuması yapılmıştır. Okunan değerler ile standart eğri oluşturulmuş ve oluşturulan standart eğri ile örnekler için konsantrasyon değerleri hesaplanmıştır.

3.2.4. 17β-estradiol analizi

Serum E2 seviyelerinin belirlenmesinde ticari kit (Estradiol EIA kit, Cayman, USA) kullanılmıştır. Kit protokolüne göre hazırlanan standart ve örneklerden 50 µl alınarak 96 kuyucuklu mikrolaklara eklenmiştir. EIA Buffer'dan 100 µl alınarak Non-Spesifik Binding (NSB) kuyularına, 50 µl alınarak Maximum Binding kuyularına eklenmiştir. Estadiol AChE Tracer'dan 50 µl alınarak Total Activity (TA) ve Blank (Blk) kuyuları hariç tüm kuyulara eklenmiştir. Daha sonra Estadiol EIA Antiserum'dan 50 µl alınarak TA, Blk ve NSB hariç tüm kuyulara eklenerek oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda 1 saat boyunca inkübasyonu yapılmıştır. İnkübasyon sonunda yıkama tamponuyla kuyular 5 sefer yıkanmıştır. Tüm kuyulara 200 µl Ellman's Reagent eklemiştir. Tracer'dan 5 µl alınarak TA kuyularına eklenmiştir. Plastik film ile kaplanan mikrolakların karanlık odada orbital çalkalayıcıda 90 dakika boyunca inkübasyonu beklenmiş ardından 405 nm dalga boyunda Mikroplate Elisa okuyucu (Diagnostic Pasteur, LP 400, Germany) ile okuması yapılmıştır. Okunan değerler ile standart eğri oluşturulmuş ve oluşturulan standart eğri ile örnekler için konsantrasyon değerleri hesaplanmıştır.

3.2.5. Vitellojenin analizi

Serum Vitellojenin (VTG) seviyelerinin belirlenmesinde ticari kit (Carp Vitellogenin Elisa Kit, Cayman, USA) kullanılmıştır. VTG değişken bir molekül olmasından dolayı analiz sırasında tüm örnekler buz üzerinde çalışılmıştır. Kit protokolüne göre hazırlanan standart ve örneklerden 100 µl alınarak 96 kuyucuklu mikrolaklara eklenmiştir. Sulandırma tamponundan 100 µl NSB kuyularına eklenmiştir. Mikrolaklar plastik film ile kaplanarak 1 saat boyunca inkübasyonu yapılmıştır. İnkübasyon sonunda yıkama tamponuyla (300 µl) kuyular 3 sefer yıkanmıştır. Belirleyici antikordan (Detecting antibody) 100 µl alınarak tüm kuyulara eklenmiştir. Mikrolaklar tekrar plastik film ile kaplanmış ve 1 saat boyunca inkübasyonu yapılmıştır. İnkübasyon sonunda yıkama tamponuyla (300 µl) kuyular 3 sefer yıkanmıştır. Sekonder antikordan 100 µl alınarak tüm kuyulara eklenmiştir. Mikrolaklar tekrar plastik film ile kaplanmış ve 1 saat boyunca inkübasyonu yapılmıştır. İnkübasyon sonunda yıkama tamponuyla (300 µl) kuyular 5 sefer yıkanmıştır. Oda sıcaklığında (20 – 25 °C) ve karanlıkta plastik film ile kaplanan mikrolakların 30 dakika boyunca inkübasyonu yapılmıştır. İnkübasyon sonunda 50 µl sülfirik asit (H₂SO₄) reaksiyonu durdurmak amacıyla tüm kuyulara eklenmiş ve 5 dakika sonra Microplate Elisa okuyucu (Thermo Scientific, Multiscan Go) ile okunmuştur. Okunan değerler ile standart eğri oluşturulmuş ve oluşturulan standart eğri ile örneklere ait konsantrasyon değerleri hesaplanmıştır.

3.2.6. Histolojik inceleme

Histolojik inceleme amacıyla balıklardan karaciğer ve gonad dokuları % 10'luk nötral formalin solüsyonuna alınarak tespit edilmiş ardından rutin doku takibi işlemleri sonrasında parafine gömülerek 3-5 mikron kalınlığında doku kesitleri alınmıştır. Bu kesitler Hematoksilen Eozin yöntemi ile boyanmış ve ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekilmiştir. Uygulanan işlemler Çizelge 3.1 ve 3.2'de gösterilmiştir [Short ve Meyers, 2001].

Çizelge 3.1. Parafin Doku Takibi İşlemleri

	YÖNTEM	SÜRE		YÖNTEM	SÜRE
İşlem	Uygulama	Süre	İşlem	Uygulama	Süre
Tespit	% 10' luk Formalin	48 saat	Şeffaştırma	Ksilol	1 saat
Dehidrasyon (Sudan Kurtarma)	% 70'lik Alkol	1 saat	Ara İşlem	Ksilol	1 saat
	% 85'lik Alkol	1 saat		Sıvı parafin	1 saat
	% 95'lik Alkol	1 saat		Sıvı Parafin	1 saat
	% 95'lik Alkol	1 saat	Gömme	Parafinle Bloklama	
	% 95'lik Alkol	1 saat			
	% 100'lük Alkol	1 saat			
	% 100'lük Alkol	1 saat			
	% 100'lük Alkol	1 saat			

Çizelge 3.2. Hematoksilen-Eozin (Hx&E) Boyama Yöntemi

	YÖNTEM	SÜRE		YÖNTEM	SÜRE
Deparafinizasyon	Ksilol	4 dakika	Ara işlemler ve boyama	Yıkama (çeşme suyunda)	1 dakika
				Amonyaktan geçirme	1 dakika
				Yıkama (çeşme suyunda)	2 dakika
Rehidratasyon	% 100 Etil Alkol	2 dakika		% 95 Etil Alkol	1 dakika
	% 80 Etil Alkol	1 dakika		Eozin	1 dakika
Ara işlemler ve boyama	Distile suda yıkama	1 dakika		% 100 Etil alkol	4 dakika
	Hematoksilen	3 dakika			
	Musluk suyu ile durulama	2 dakika		Ksilol	3 dakika
	Asit alkolden geçirme	1 dakika		Kapatma (Entellan)	

3.2.7. İstatiksel analiz

Analizlerde SPSS 11.5 paket programı kullanılmıştır. Veriler aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Kontrol ve deney grupları arasındaki fark OneWay ANOVA testi kullanılarak belirlenmiştir. $p < 0.05$ düzeyi önemli kabul edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. BULGULAR

Diazinonun iki farklı subletal derişiminin etkisinde, *C. carpio*'ların serumlarında E2, T ve VTG seviyeleri belirlenerek, karaciğer ve gonadlarda oluşan histopatolojik bulgular tespit edilmiştir. Deney süresince balıklarda her hangi bir davranış değişikliği ve mortalite gözlenmemiştir. Bulgulara ait veriler aşağıda sunulmuştur.

4.1.1. Erkek balıklarda serum E2, T ve VTG seviyeleri

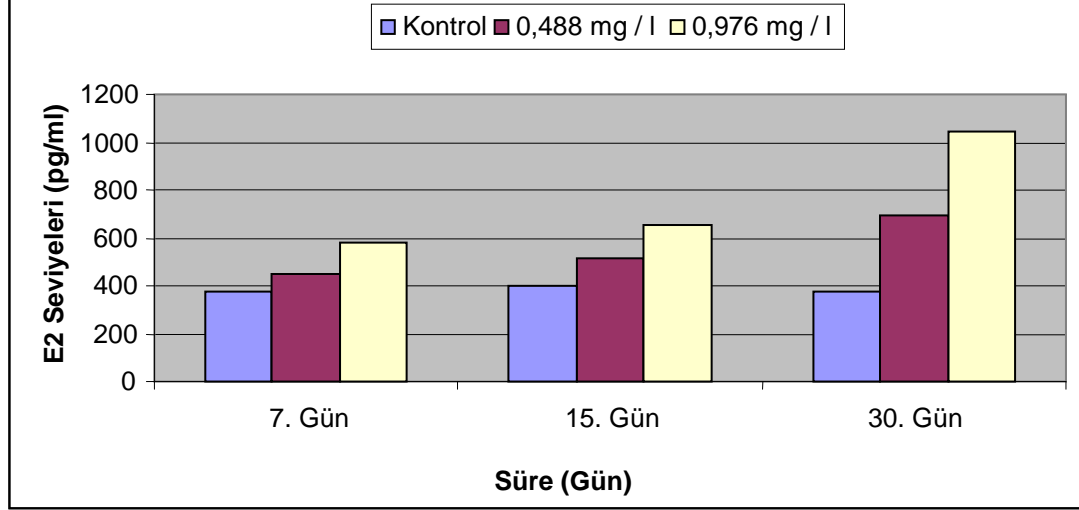
4.1.1.1. Serum E2 seviyeleri

7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0,976 mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 seviyelerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir. 7. ve 30. günlerde belirlenen artış her iki derişim içinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$, Çizelge 4.1, Şekil 4.1). 15. günde belirlenen artış ise sadece yüksek derişim uygulaması için önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Çizelge 4.1. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum E2 seviyeleri.

Derişim (mg / L)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	30. Gün
Kontrol	378,4 ± 13,90 ^{ax}	398,40 ± 30,40 ^{ax}	372,80 ± 44,80 ^{ax}
0,488 mg / L	445,30 ± 45,80 ^{axy}	511,90 ± 16,70 ^{abx}	693,70 ± 65,10 ^{bxy}
0,976 mg / L	582,05 ± 27,35 ^{ay}	649,00 ± 39,60 ^{ay}	1041,35 ± 123,55 ^{by}

Değerler aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir. a, b, c ve d harfleri süreler; x, y ve z harfleri derişimler arası ayrımı göstermektedir. $p < 0.05$ düzeyi önemli kabul edilmiştir.



Şekil 4.1. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum E2 seviyeleri.

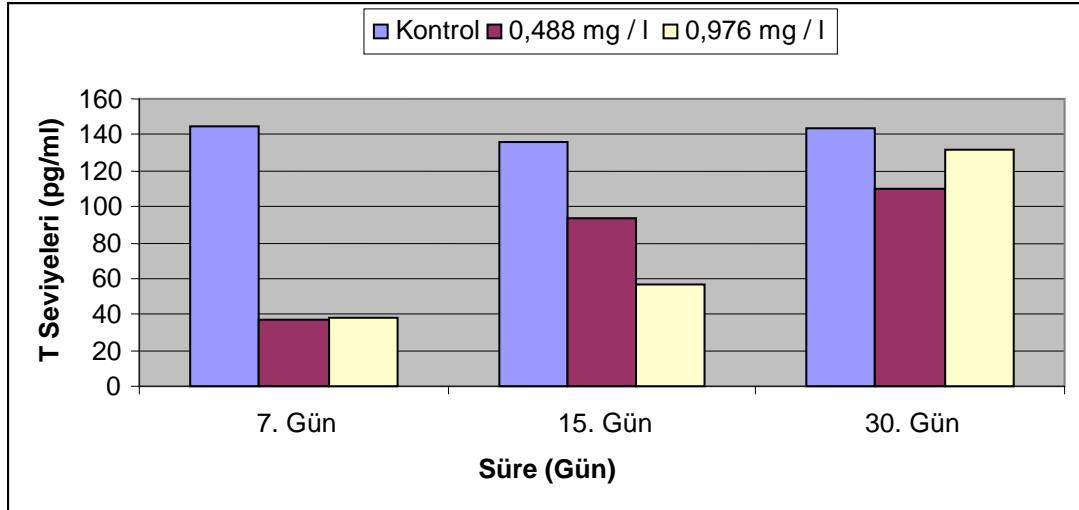
4.1.1.2.Serum T seviyeleri

7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0 976. mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum T seviyelerinin kontrol grubuna göre azalış gösterdiği belirlenmiştir. Bu azalış 7. günde istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0.05$), 30. günde istatistiksel olarak önemsizdir ($p > 0.05$). 15. gün sadece yüksek derişim uygulamasındaki artış istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.2).

Çizelge 4.2. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum T seviyeleri.

Derişim (mg / L)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	30. Gün
Kontrol	145,30 ± 26,90 ^{ay}	135,80 ± 6,20 ^{ay}	143,40 ± 17,80 ^{ax}
0,488 mg / L	37,20 ± 11,60 ^{ax}	93,20 ± 29,50 ^{ay}	109,50 ± 38,00 ^{ax}
0,976 mg / L	38,25 ± 5,75 ^{ax}	57,10 ± 27,20 ^{abx}	132,15 ± 22,05 ^{bx}

Değerler aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir. a, b, c ve d harfleri süreler; x, y ve z harfleri derişimler arası ayrımı göstermektedir. p<0.05 düzeyi önemli kabul edilmiştir.



Şekil 4.2. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum T seviyeleri.

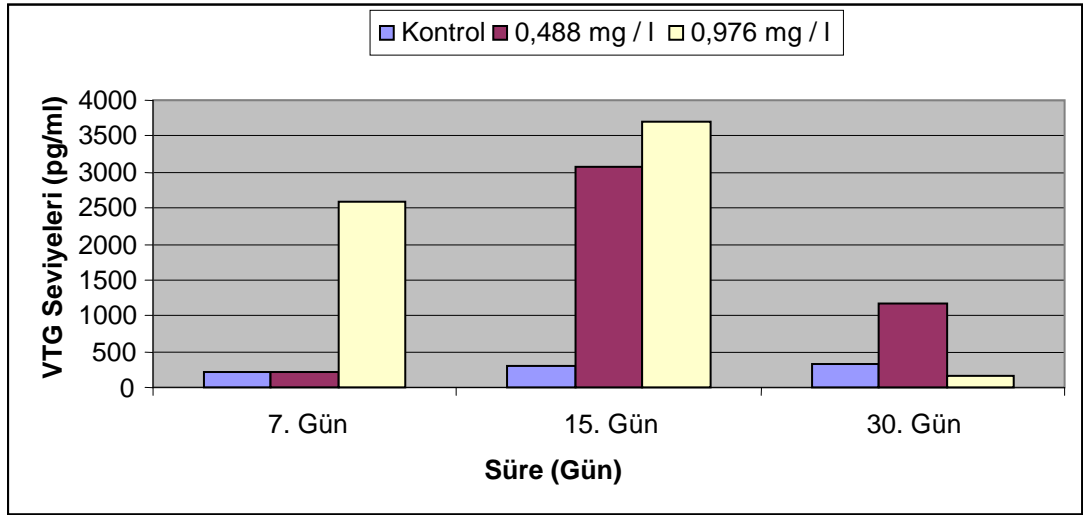
4.1.1.3. Serum VTG seviyeleri

7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0 976. mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum VTG seviyelerinin kontrol grubuna göre 15. günde artış gösterdiği ve bunun istatistiksel olarak önemli olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiştir. 7. günde düşük derişim uygulamasında seviyelerde değişim olmazken, yüksek derişim uygulamasında artış gözlenmiştir. Bu artışta istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 30. günde yüksek derişim uygulamasında ise azalma olurken bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) belirlenmiştir. 30. gün uygulamasının düşük derişiminde belirlenen artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$, Çizelge 4.3, Şekil 4.3).

Çizelge 4.3 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum VTG seviyeleri.

Derişim (mg / L)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	30. Gün
Kontrol	217,00 ± 35,00 ^{ax}	307,00 ± 39,00 ^{ax}	315,00 ± 65,00 ^{ax}
0,488 mg / L	217,00± 15,00 ^{ax}	3079,00 ± 195,00 ^{cy}	1164,00 ± 108,00 ^{by}
0,976 mg / L	2591,50 ± 355,50 ^{by}	3714,00 ± 89,00 ^{cz}	167,50 ± 13,50 ^{ax}

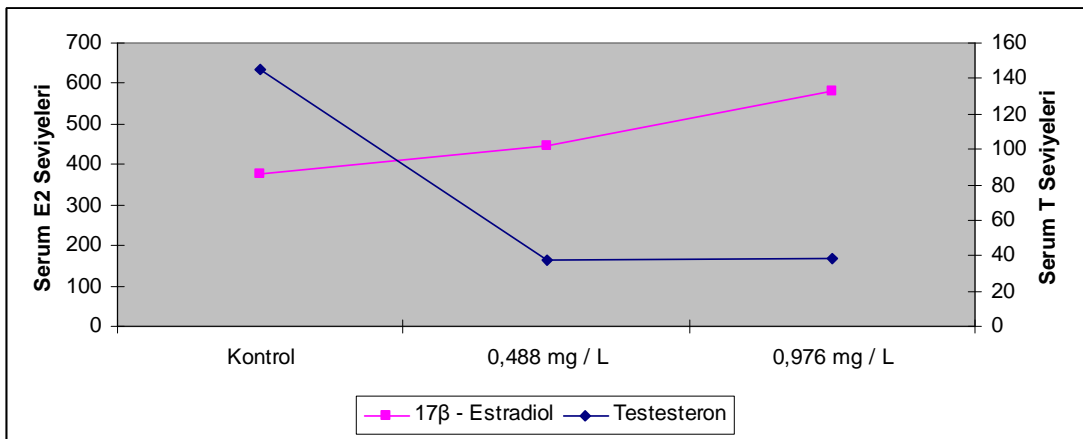
Değerler aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir. a, b, c ve d harfleri süreler; x, y ve z harfleri derişimler arası ayrımı göstermektedir. $p < 0.05$ düzeyi önemli kabul edilmiştir.



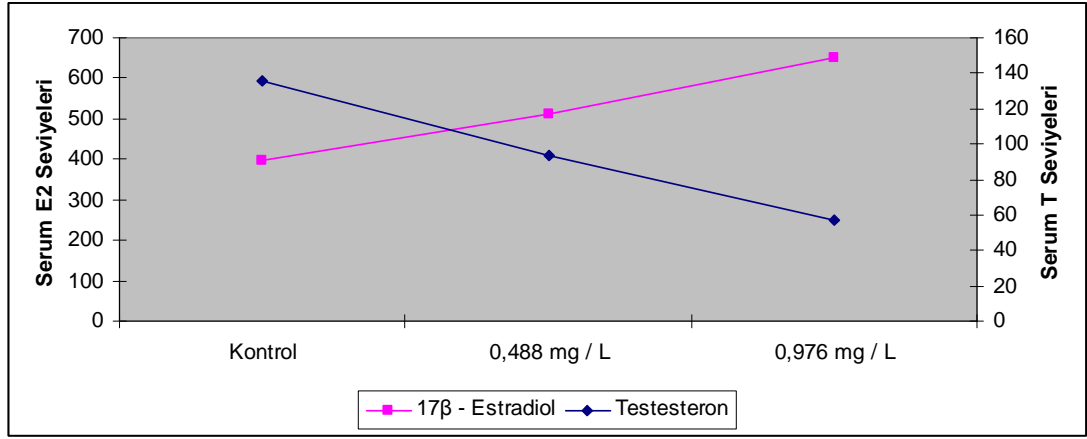
Şekil 4.3. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların erkek bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum VTG seviyeleri.

4.1.1.4. Serum E2 ve T seviyeleri arasındaki ilişki

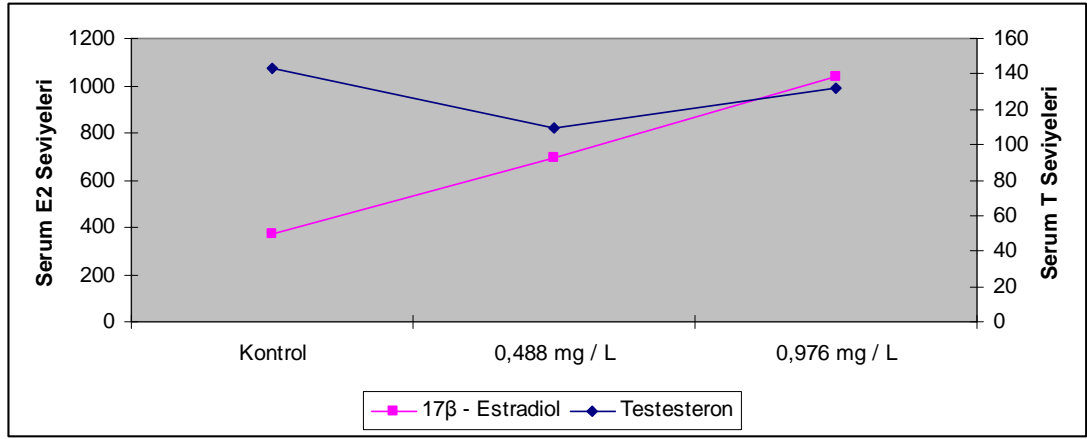
7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0 976. mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 seviyeleri kontrol grubuna göre derişime bağılı olarak artış gösterirken, serum T seviyeleri azalış göstermiştir. Bu bulgular, Şekil 4.4, 4.5 ve 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.4. 7 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 ve T seviyeleri.



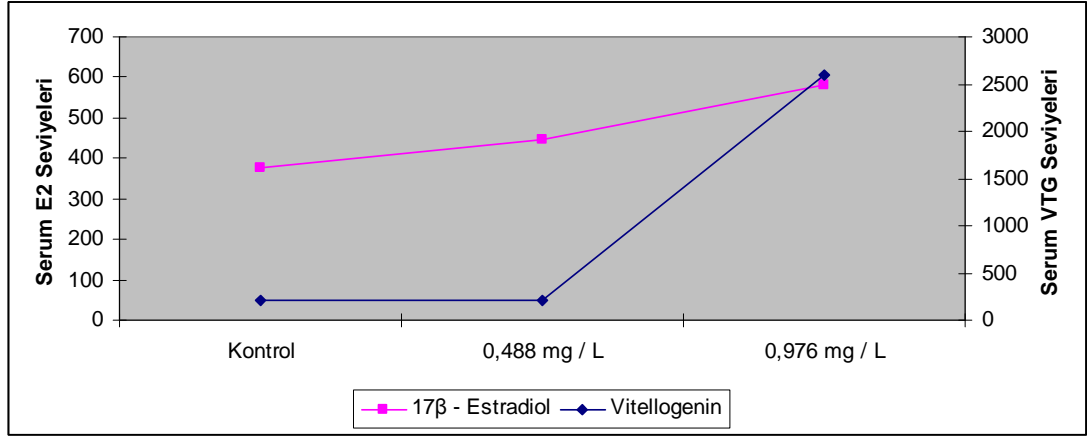
Şekil 4.5. 15 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 ve T seviyeleri.



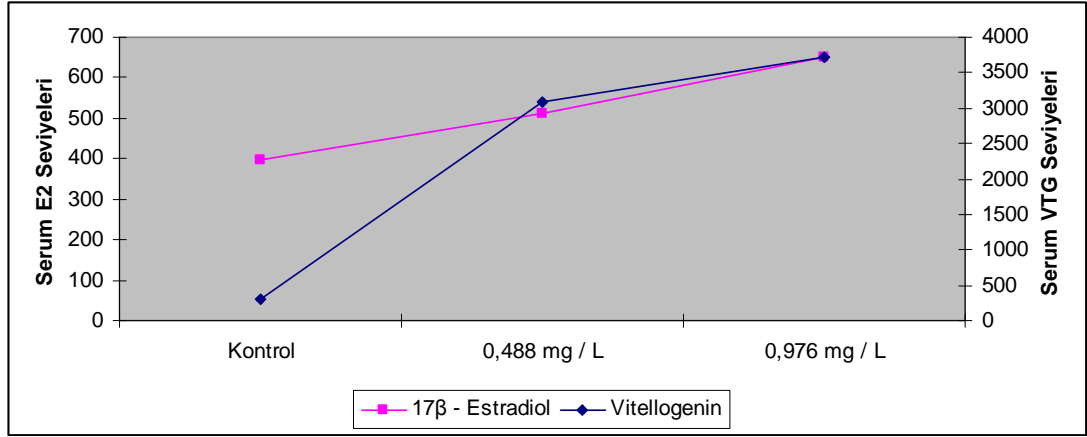
Şekil 4.6. 30 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 ve T seviyeleri.

4.1.1.5. Serum E2 ve VTG seviyeleri arasındaki ilişki

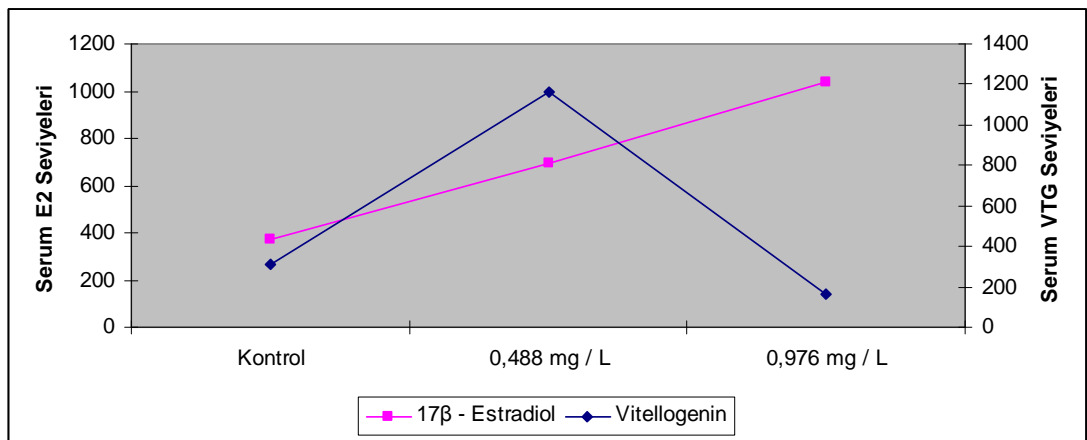
7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0 976. mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 seviyeleri kontrol grubuna göre derişime bağılı olarak artış gösterirken, VTG seviyeleri 7. günde yüksek derişim uygulamasında, 15. günde her iki derişimde, 30. günde düşük derişimde kontrol grubuna göre artış göstermiştir. 30. günde yüksek derişim uygulamasında VTG seviyesi azalmış, 7. günde düşük derişim uygulamasında değışim olmamıştır. Serum E2 ve VTG seviyeleri arasındaki ilişki süreye bağılı olarak Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.7. 7 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 ve VTG seviyeleri.



Şekil 4.8. 15 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 ve VTG seviyeleri.



Şekil 4.9. 30 gün süresince iki farklı subletal dozda diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 ve VTG seviyeleri.

4.1.2. Dişi balıklarda serum E2, T ve VTG seviyeleri

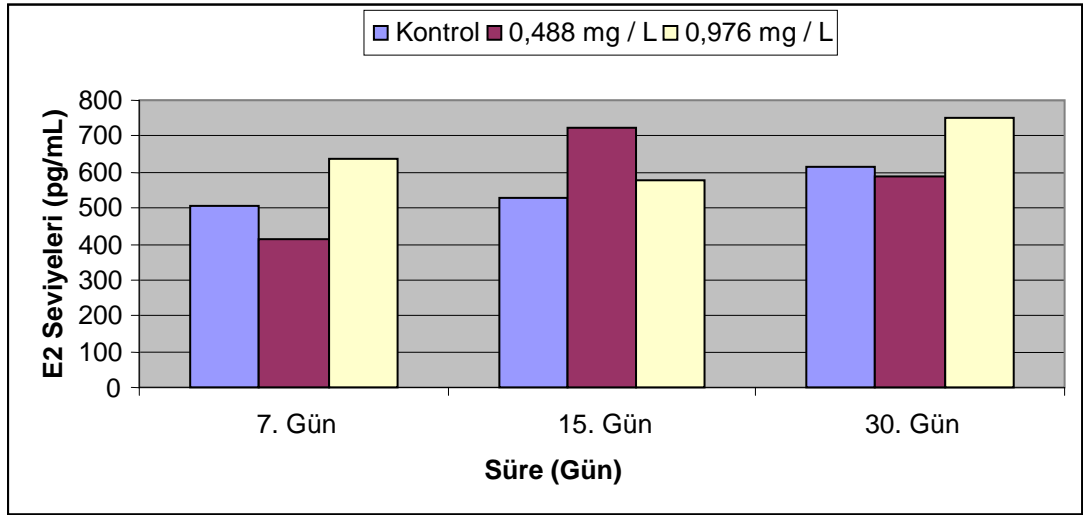
4.1.2.1. Serum E2 seviyeleri

7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0 976. mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan dişi *C. carpio*'ların serum E2 seviyelerinin kontrol grubuna göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Ancak bu artış ya da azalışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$). Yüksek derişim uygulamasının 30. gününde görülen artış miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$, Çizelge 4.4, Şekil 4.10).

Çizelge 4.4 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum E2 seviyeleri.

Derişim (mg / L)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	30. Gün
Kontrol	507,60 ± 8,30 ^{ax}	528,80 ± 23,70 ^{ax}	614,85 ± 33,25 ^{ax}
0,488 mg / L	412,65 ± 50,55 ^{ax}	724,60 ± 86,30 ^{ax}	588,40 ± 105,40 ^{ax}
0,976 mg / L	638,10 ± 126,40 ^{ax}	577,65 ± 31,75 ^{ax}	748,55 ± 38,85 ^{ay}

Değerler aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir. a, b, c ve d harfleri süreler; x, y ve z harfleri derişimler arası ayrımı göstermektedir. $p < 0.05$ düzeyi önemli kabul edilmiştir.



Şekil 4.10 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum E2 seviyeleri.

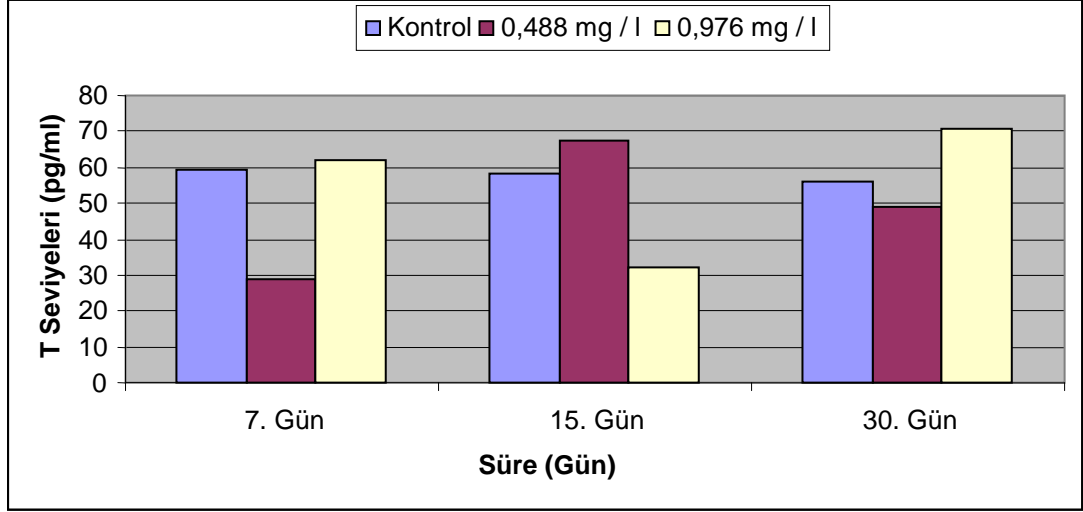
4.1.2.2. Serum T seviyeleri

7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0 976. mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan dişi *C. carpio*'ların serum T seviyelerinin kontrol grubuna göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Ancak bu artış ya da azalışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$, Çizelge 4.5, Şekil 4.11).

Çizelge 4.5 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum T seviyeleri.

Derişim (mg / L)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	30. Gün
Kontrol	59,10 ± 1,80 ^{ax}	58,30 ± 11,20 ^{ax}	55,80 ± 33,10 ^{ax}
0,488 mg / L	28,95 ± 0,95 ^{ax}	67,60 ± 21,30 ^{ax}	48,85 ± 3,25 ^{ax}
0,976 mg / L	61,80 ± 17,00 ^{ax}	32,10 ± 12,70 ^{ax}	70,60 ± 16,00 ^{ax}

Değerler aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir. a, b, c ve d harfleri süreler; x, y ve z harfleri derişimler arası ayrımı göstermektedir. $p < 0.05$ düzeyi önemli kabul edilmiştir.



Şekil 4.11. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum T seviyeleri.

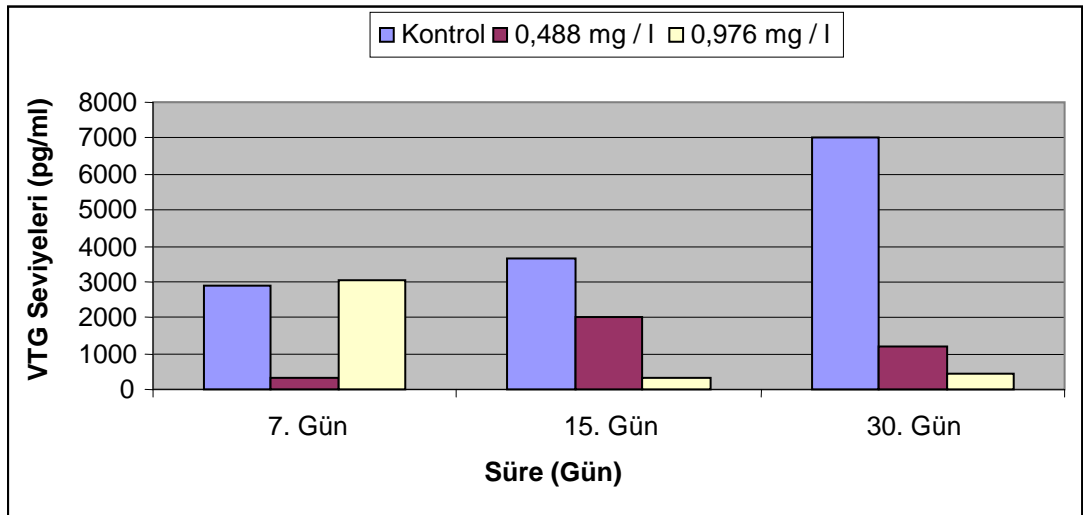
4.1.2.3. Serum VTG seviyeleri

7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0 976. mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan dişi *C. carpio*'ların serum VTG seviyelerinin kontrol grubuna göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. 15. ve 30. günlerde VTG seviyeleri derişime bağlı olarak düşmüş ve bu düşüşler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 7. gün düşük derişim uygulamasında VTG seviyesi azalırken, yüksek doz uygulamasında artış göstermiştir. Bu artış ve azalış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.6, Şekil 4.12).

Çizelge 4.6 Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum VTG seviyeleri.

Derişim (mg / L)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	30. Gün
Kontrol	2880,00 ± 67,00 ^{ay}	3636,50 ± 13,50 ^{bz}	7045,00 ± 198,00 ^{cz}
0,488 mg / L	343,50 ± 24,50 ^{ax}	2012,00 ± 18,00 ^{cy}	1184,00 ± 128,50 ^{by}
0,976 mg / L	3039,50 ± 98,50 ^{bz}	344,00 ± 24,00 ^{ax}	430,00 ± 46,00 ^{ax}

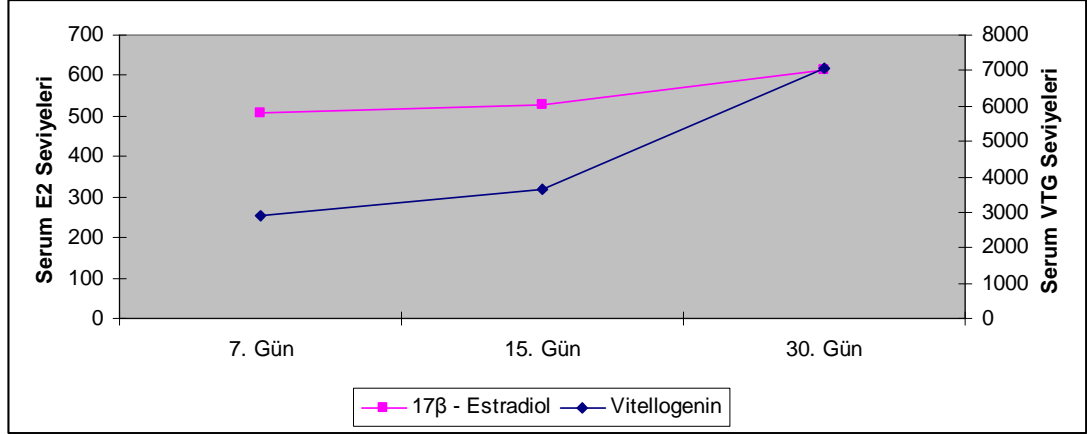
Değerler aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir. a, b, c ve d harfleri süreler; x, y ve z harfleri derişimler arası ayrımı göstermektedir. p<0.05 düzeyi önemli kabul edilmiştir.



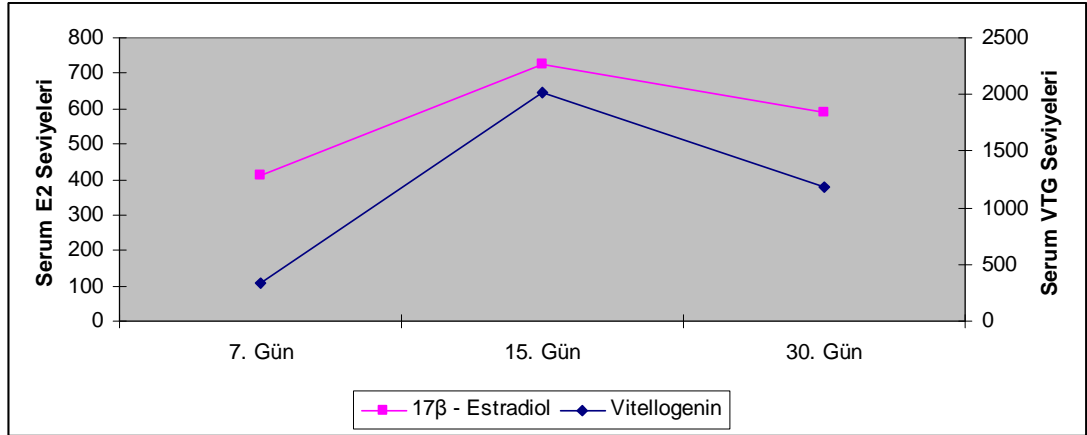
Şekil 4.12. Diazinonun farklı subletal derişimlerinin etkisine maruz kalan *C. carpio*'ların dişi bireylerinde 7., 15. ve 30. günlerde serum VTG seviyeleri.

4.1.2.4. Serum E2 ve VTG seviyeleri arasındaki ilişki

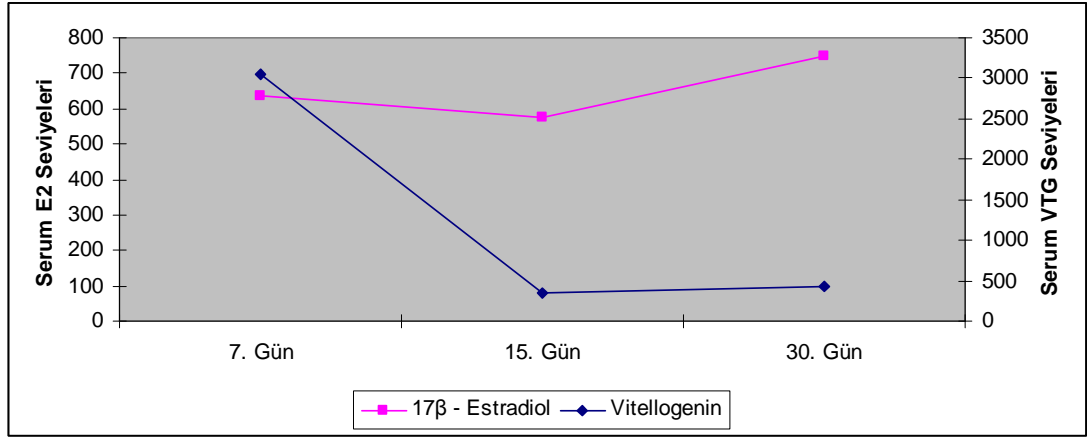
7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0 976. mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan dişi *C. carpio*'ların serum E2 seviyelerinde ortaya çıkan değişiklikler, VTG seviyelerinde artış veya azalışa neden olmuştur. (Şekil 4.13, 4.14, 4.15).



Şekil 4.13. 7, 15 ve 30 gün sürelerince dişi *C. carpio*'ların serumlarında kontrol grubunda belirlenen E2 ve VTG seviyeleri ve aralarındaki ilişki.



Şekil 4.14. 7, 15 ve 30 gün sürelerince dişi *C. carpio*'ların serumlarında 0,488 mg / L derişim seviyesinde belirlenen E2 ve VTG seviyeleri ve aralarındaki ilişki.



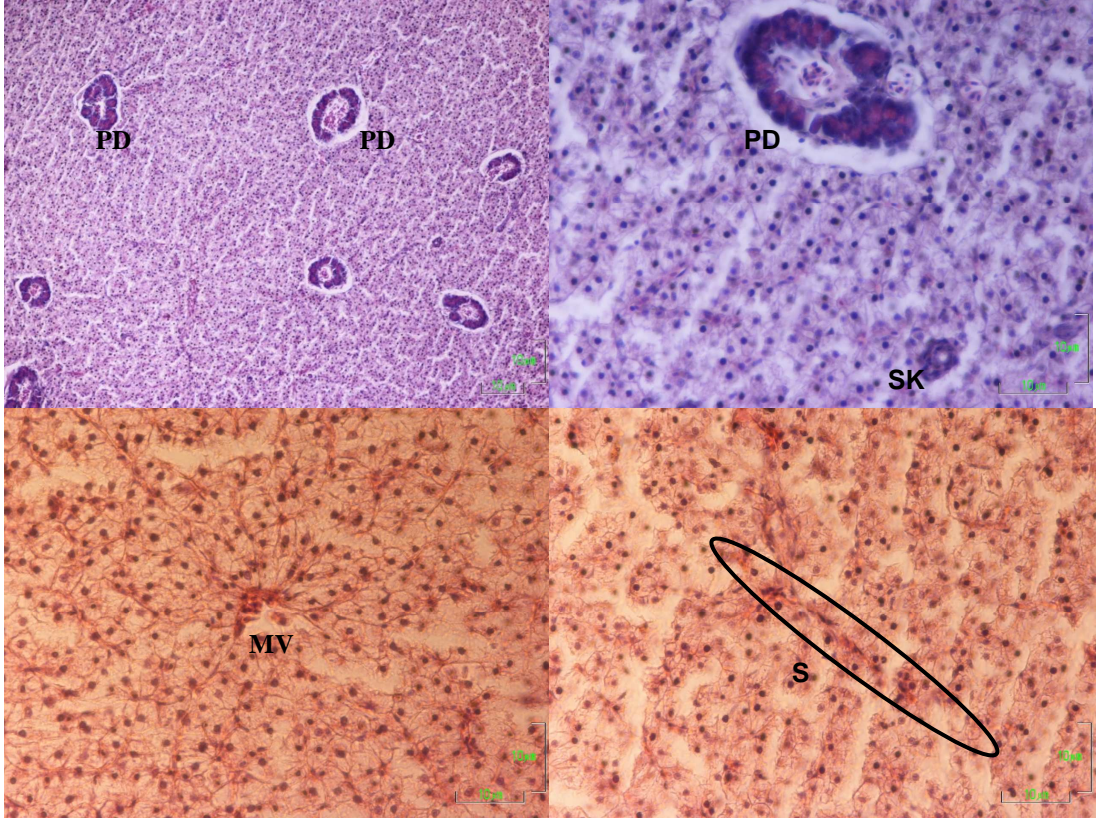
Şekil 4.15. 7, 15 ve 30 gün sürelerince dişi *C. carpio*'ların serumlarında 0,976 mg / L derişim seviyesinde belirlenen E2 ve VTG seviyeleri ve aralarındaki ilişki

4.1.3. Histolojik Bulgular

Histolojik inceleme amacıyla balıklardan karaciğer ve gonad dokuları (testis - ovaryum) alınmış ve mikroskop altında incelenmeleri sonrasında elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

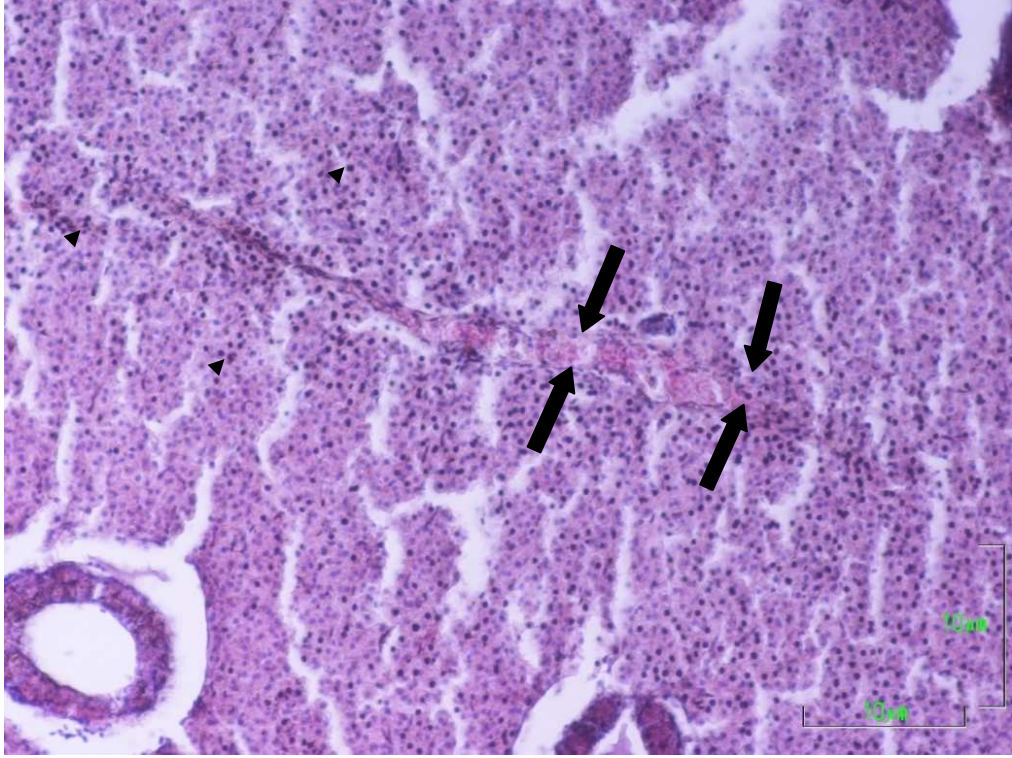
4.1.3.1. Karaciğer Dokusu

Kontrol grubunun karaciğer dokuları incelendiğinde; karaciğer dokusu parenşiminin hepatosit adı verilen hücrelerden oluştuğu bunun yanısıra karaciğer dolaşımını sağlayan arter, vena ve bunların uzantısı kılcal damarlar olan sinüzoidler ile safra kanallarının varlığı gözlemlenmiştir. Ayrıca karaciğer içerisinde dağılmış bir şekilde bulunan pankreatik doku da tespit edilmiştir (Şekil 4.16).

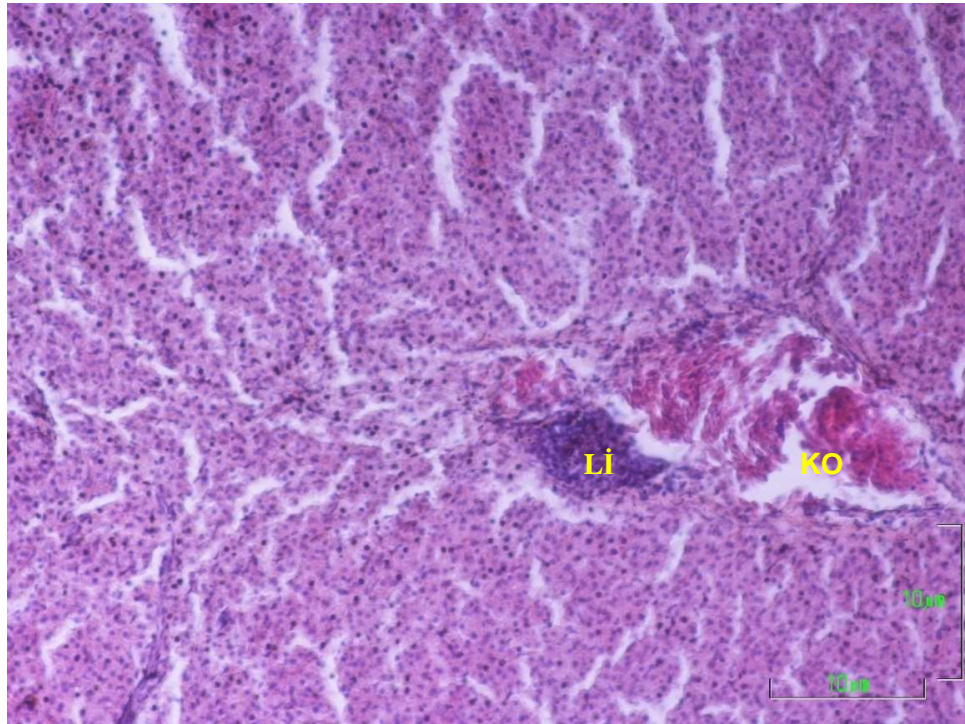


Şekil 4.16. Kontrol karaciğer dokusu (H&E, x100) (PD: Pankreatik doku, Sk: Safra kanalı, Mv: Merkezi vena, S: Sinuzoid)

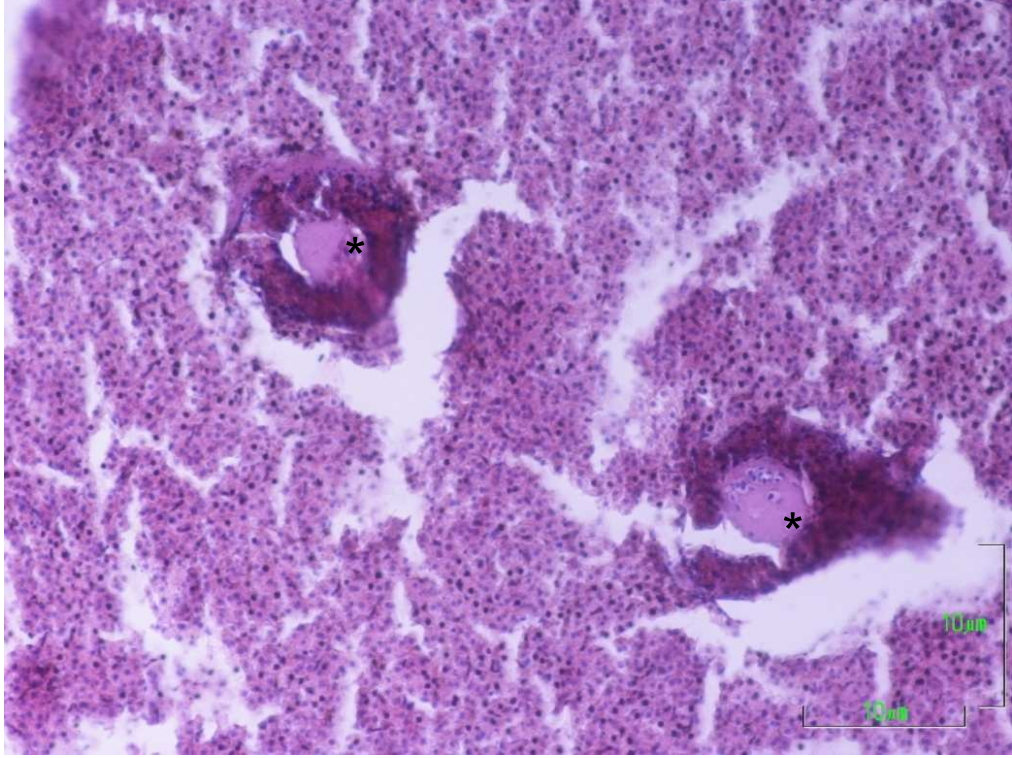
0.448 mg / L konsantrasyonunda diazinonun uygulandığı *C. carpio*'ların karaciğerlerinde sinüzoidlerde ve venalarda dilatasyonlar ile konjesyonların yanısıra lenfosit infiltrasyonu belirlenmiş, ayrıca hepatositlerde piknotik çekirdek gözlenmiştir (Şekil 4.17, 4.18). Pankreatik dokunun çevrelediği portal damarlarda da proteokazeöz bir sıvının birikimi tespit edilmiştir (Şekil 4.19). Bahsedilen sıvı birikimi 0,976 mg / L konsantrasyonda diazinonun uygulandığı balıklarda da belirlenmiş (Şekil 4.20), ayrıca bu konsantrasyonun uygulandığı balıklarda merkezi damarlarda ve safra kanallarında dilatasyonlar, damarlarda konjesyonlar, hepatositlerde piknotik çekirdek ve nekrozlar tespit edilmiş, bunun yanında pigment birikimlerinin varlığı da saptanmıştır (Şekil 4.21, 4.22, 4.23).



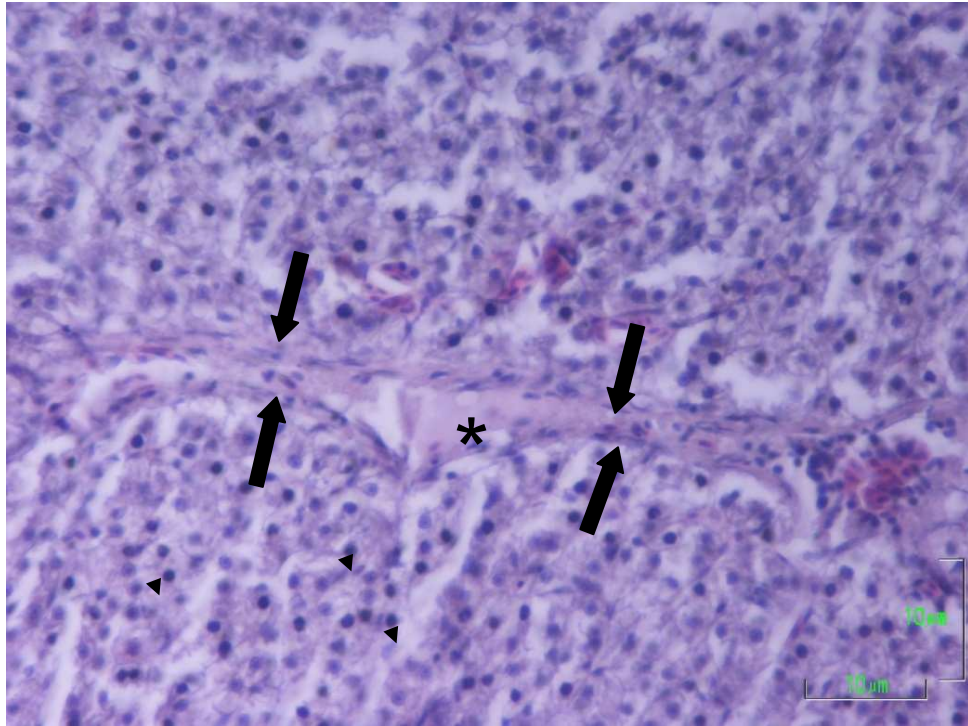
Şekil 4.17. 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında (30. gün) karaciğer sinüzoidlerinde dilatasyon ve konjesyon, piknotik çekirdekli hepatositler (okbaşları) (oklar) (HxE, x200)



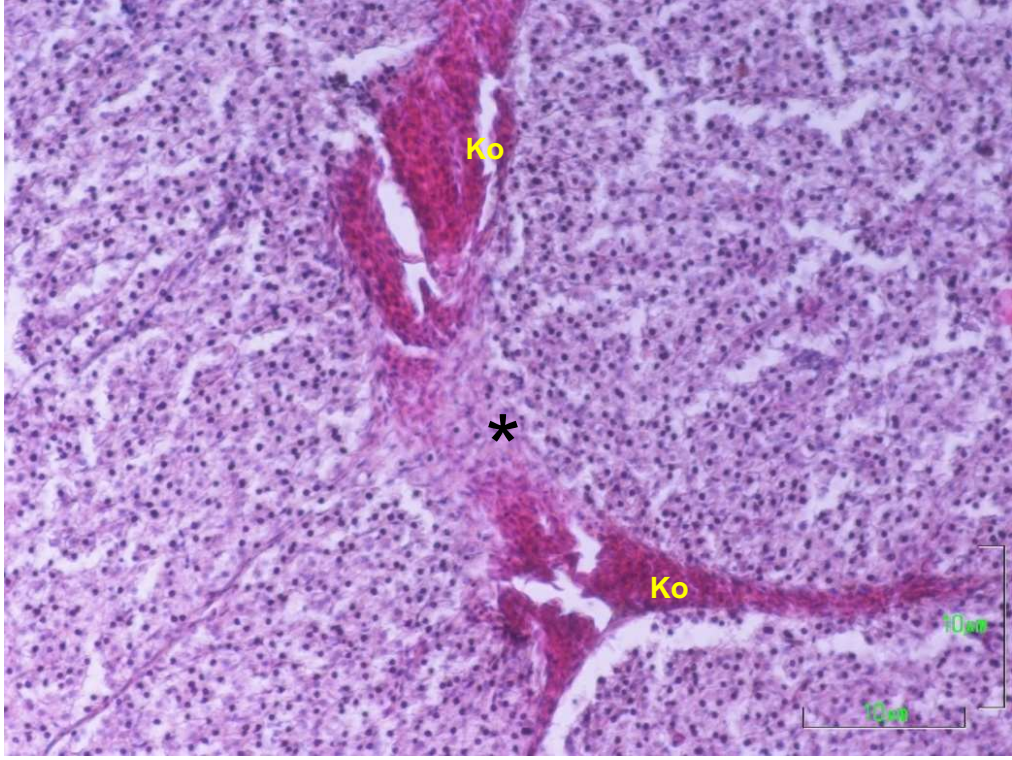
Şekil 4.18. 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında (30. gün) karaciğerde vena konjesyonu (KO), lenfosit infiltrasyonu (Lİ) (HxE, x200)



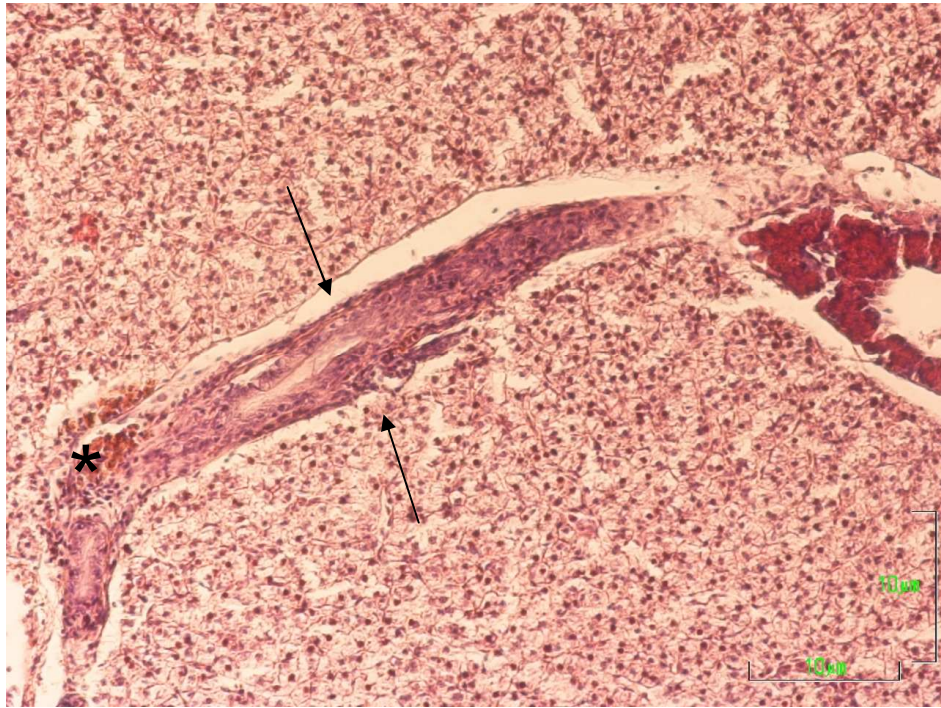
Şekil 4.19 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında (30. gün) karaciğerde portal venalarda proteokazeöz sıvı birikimi (*) (H&E, x200)



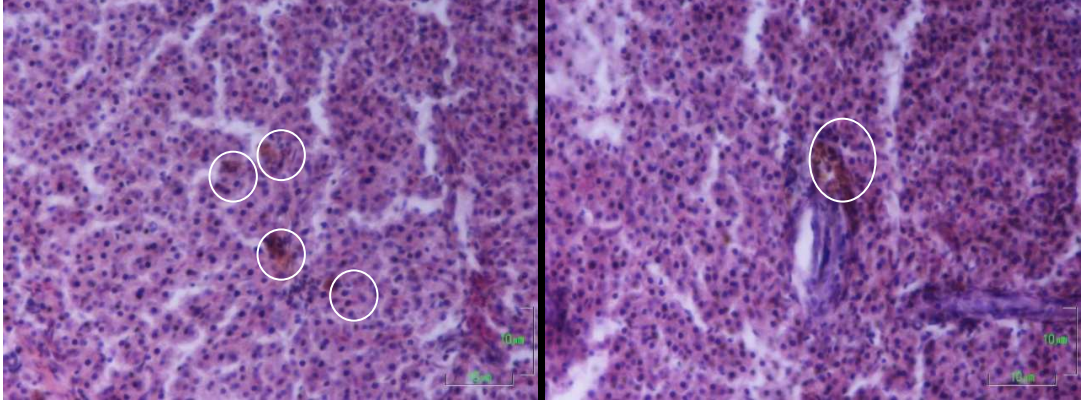
Şekil 4.20. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında (7. gün) karaciğerde sinuzoidlerde (oklar) proteokazeöz sıvı birikimi (*) piknotik çekirdekli hepatositler (okbaşları) (H&E, x200)



Şekil 4.21. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında (7. gün) karaciğerde hepatoportal damarlarda dilatasyonlar, konjesyon (Ko) ve nekroz (*) (H&E, x200)



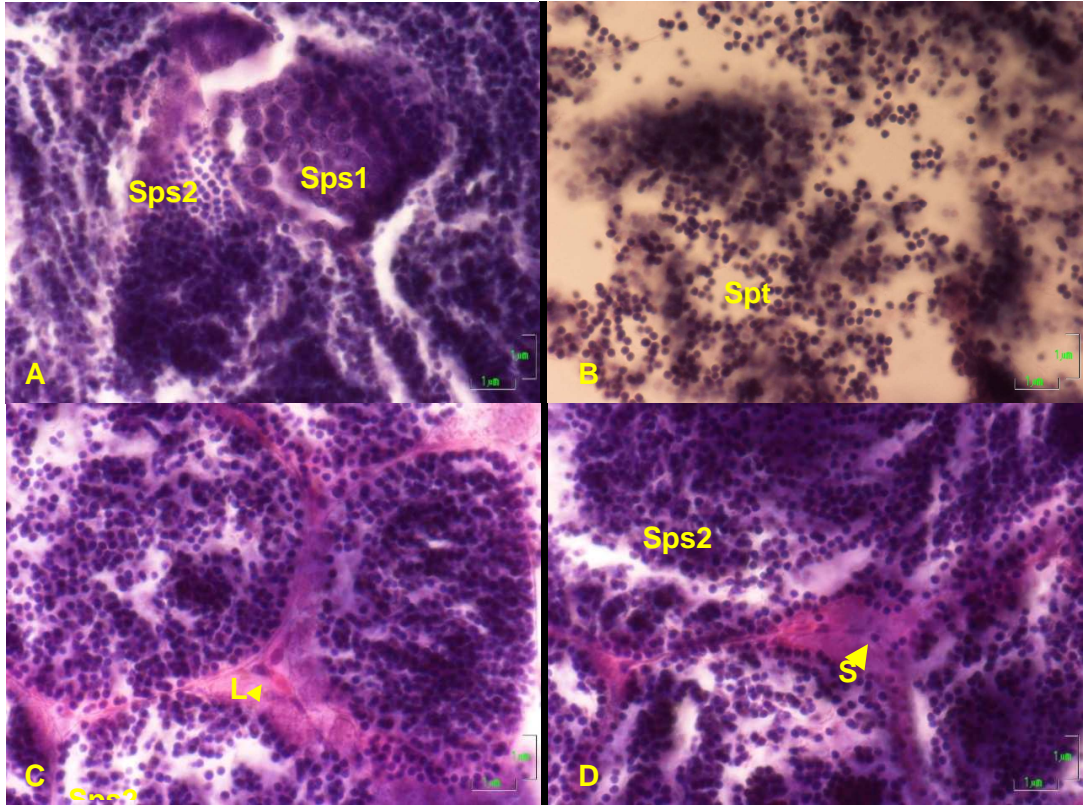
Şekil 4.22. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında (7. gün) karaciğerde safra kanalında dilatasyon (oklar), ve melanomakrofaj merkezi (*) (H&E, x200)



Şekil 4.23. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında (30. gün) karaciğerde hücresel parenşimde safra pigmentleri birikimleri (HxE, x400)

4.1.3.2. Testis Dokusu

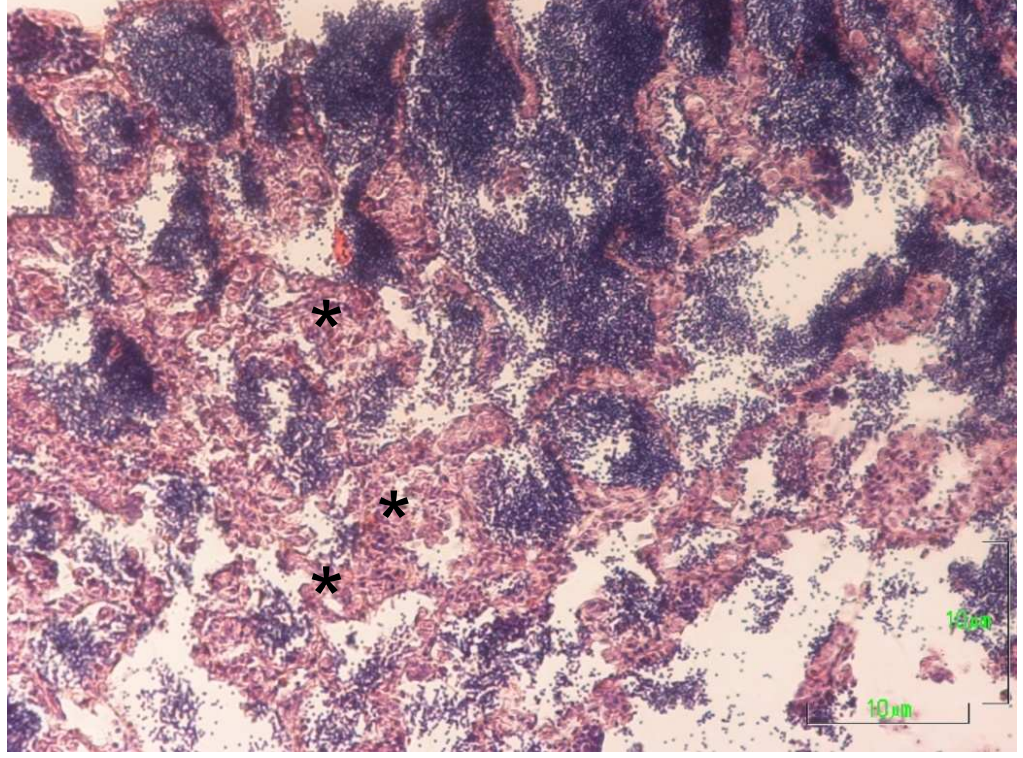
Kontrol grubunun testis dokuları incelendiğinde; içlerinde farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerini bulunduran ve genellikle kıvrılmış olmakla birlikte değişik şekil ve büyüklüklerde olmak üzere çok sayıda seminifer tübülden oluşmuş bir yapı gözlenmiştir. Tübüller arası boşluklarda interstisyel hücreler ve kan damarlarının varlığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.24).



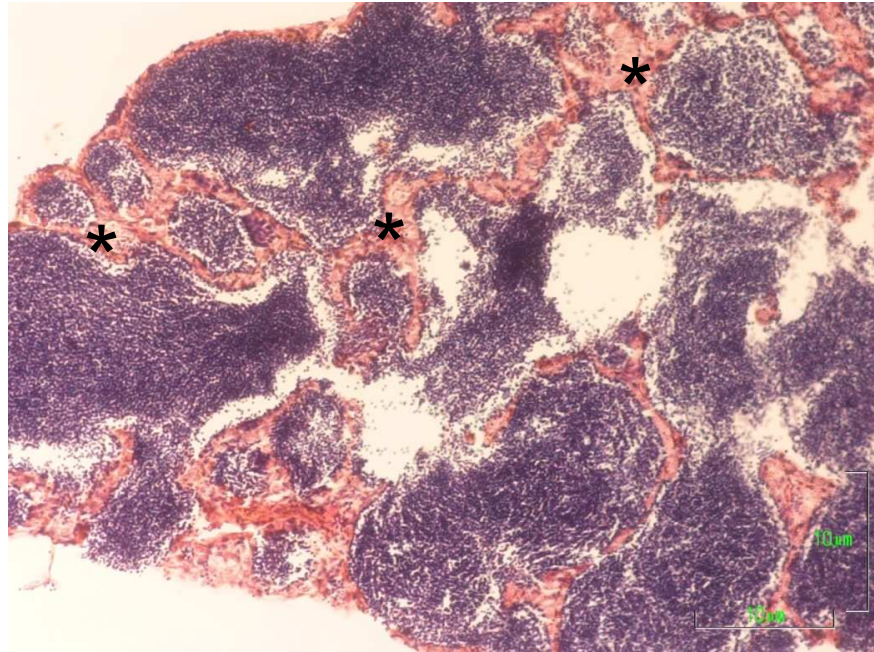
Şekil 4.24. Kontrol grubu testis dokusu (Hx E, x1000) (A: Primer ve sekonder spermatositler B: Spermatidler, C: Sekonder spermatositler, interstisyel hücreler, D: Sekonder spermatositler ve seminifer tübül bazal membran hücreleri. Sps1: Primer spermatosit, Sps2: Sekonder spermatosit, Spt: Spermatid, L: Leydig hücresi, S: Sertoli hücresi)

0.448 mg / L konsantrasyonunda diazinonun uygulandığı *C.carpio*'ların testis dokularında seminifer tübül yapılarında dejenerasyonlar ve intertübuler boşluklarda bulunan hücrelerin sayısında artış ile karakteristik fibrozis olgusuna rastlanmıştır (Şekil 4.25, 4.26). 0. 976 mg / L konsantrasyonunda diazinonun uygulandığı

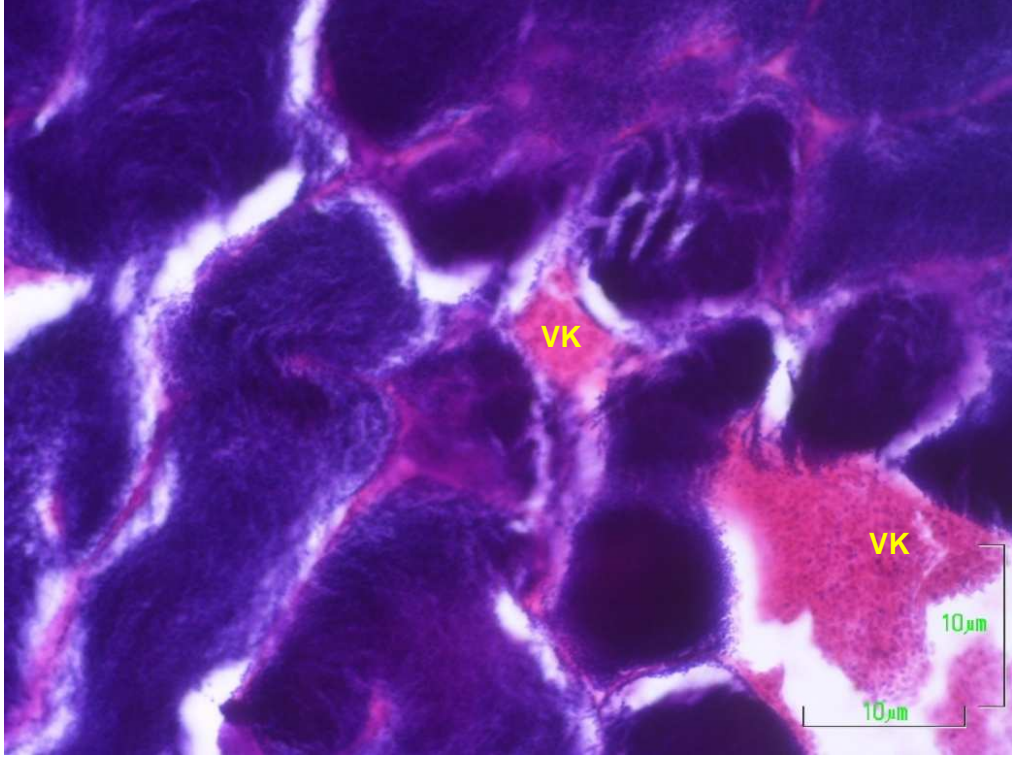
C. carpio'ların testis dokularında da intertubuler boşluklarda bulunan kan damarlarında konjesyonlar ve yine bu boşluklarda yer alan bulunan hücrelerin sayısında artışı ile şekillenen fibrozis olgusuna rastlanmıştır (Şekil 4.27, 4.28)



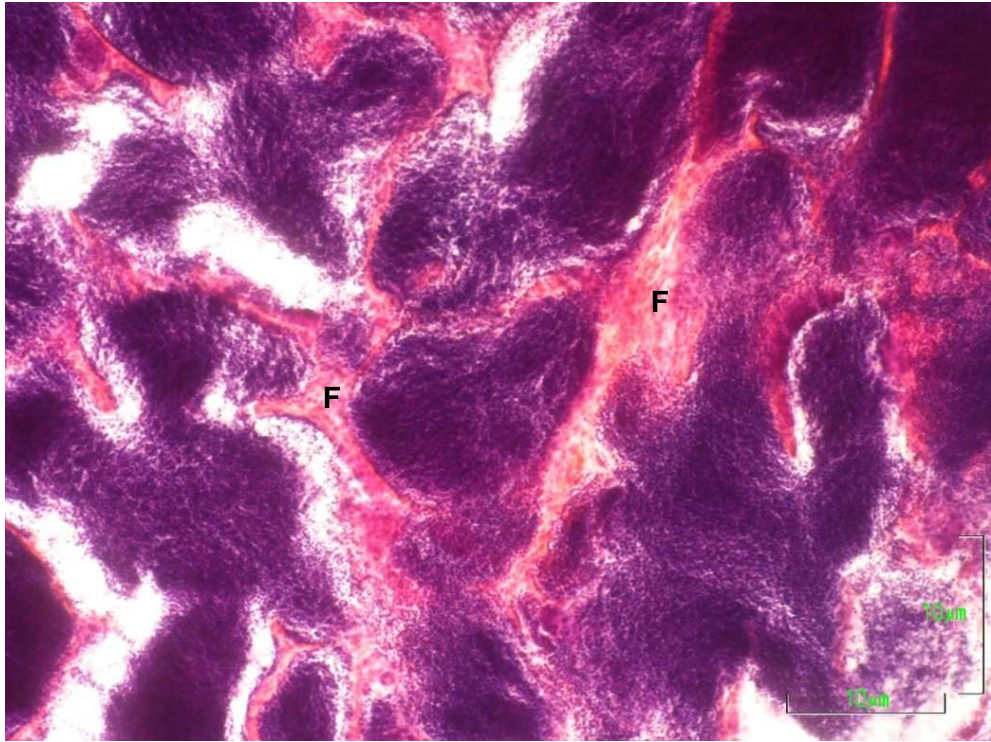
Şekil 4.25. 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında testiste seminifer tübül yapılarında yaygın dejenerasyonlar (*) (HxE, x200)



Şekil 4.26. 0.448 mg / L diazinon uygulanmasında testiste fibrozis (*) (HxE, x200)



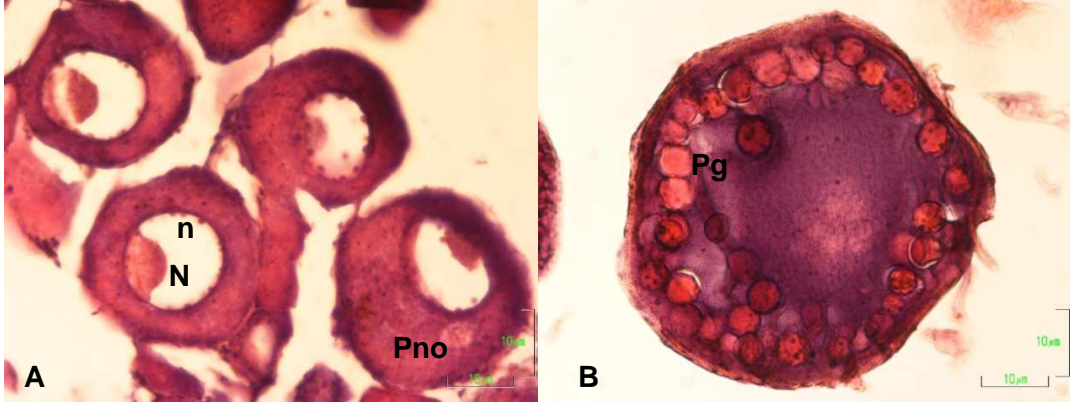
Şekil 4.27. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında testiste venöz konjesyonlar (VK) (HxE, x200)



Şekil 4.28. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında testiste fibrozis (F) (HxE, x200)

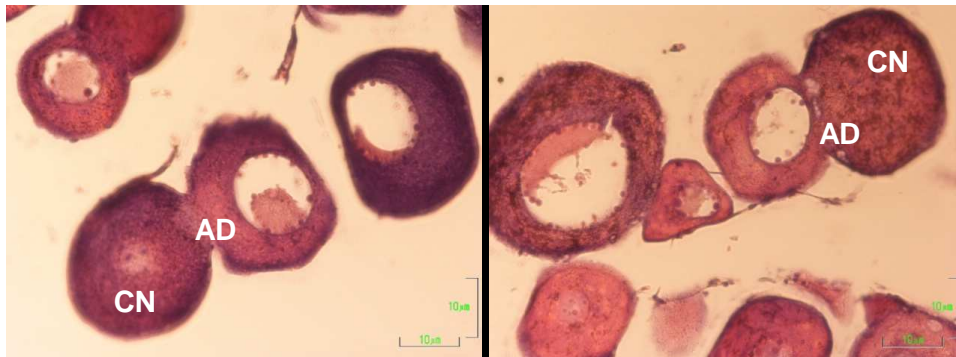
4.1.3.3. Ovaryum Dokusu

Kontrol grubunun ovaryum dokuları incelendiğinde; gonad epiteli ile çevrelenmiş bir stroma içerisinde çok sayıda ve farklı gelişme aşamalarındaki oositleri içeren folliküller gözlemlenmiştir. Daha çok primer gelişim aşamasındaki perinükleolar oositler, kortikal alveolik aşamadaki oositler ve vitellojenik oositlerin varlığı tespit edilmiştir (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. Kontrol grubunda oositlerin görünüşleri (HxE, x400) (A: Perinükleolar oositler, B: Vitellojenik oosit. Pno=Perinükleolar oositler, N=Nükleus, n=nükleolus, Pg=Protein granülleri)

Her iki konsantrasyonda da diazinonun uygulandığı balıklarda oositlerin sitoplazmalarında nekrozlar saptanmıştır, 0,976 mg / L dozun uygulandığı bireylerde aynı zamanda oositler arasında adezyonların varlığı da tespit edilmiştir. (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. 0,976 mg / L diazinon uygulanmasında oositlerde adezyonlar (AD) ve sitoplazmik nekrozis (CN) (HxE, x400)

4.2. TARTIŞMA

Deney süresince balıklarda her hangi bir davranış değişikliği ve mortalite gözlenmemiştir.

Çalışmada erkek *C. carpio*'ların kontrol grubunda E2 seviyeleri bakımından önemli bir değişim yaşanmazken 7, 15 ve 30 gün süresince 0,488 mg / L ve 0,976 mg / L derişimlerde diazinona maruz kalan erkek *C. carpio*'ların serum E2 seviyelerinin hem süreye hem de derişime bağılı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Diazinon ya da diğere OF'ların biyodönüşüm reaksiyonları genellikle karaciğere gibi periferel dokularda monooksijenaz sistemi (MFO) tarafından gerçekleştirilir [Demiröğene, 2010, Kime, 1998, Yang vd., 1971, Fuji ve Asaka 1982]. MFO, ayrıca steroid hormonların gonadlardan salınımı ya da deaktive edilmesinde önemli rol oynamakta ve etkisini gösterebilmek için sitokrom P450 enzimlerine ihtiyaç duymaktadır [Kime, 1998]. Sitokrom P450 enzimleri ise aromatisasyonda rol oynayarak C19 androjenlerin aromatik C18 östrojenlere dönüşümünde görev almaktadır [Hong vd., 2007]. OF'lı pestisitlere maruz kalan canlılarda P450 enzimlerinin aktivitelerinin arttığını belirtilen çok sayıda çalışma mevcuttur [Bucheli ve Fent, 1995, Dong vd., 2013, Husoy vd., 1996, Munkittrick ve Servos, 1994, Sole vd., 2003a]

Erkek *C. carpio*'larda diazinon muhtemelen MFO ve P450 enzimlerinin aktivitesini arttırmış bu da gonadlarda aromatisasyonu hızlandırarak T'nin E2'ye dönüşüm oranını yükseltmiştir. Çalışmamızda derişime bağılı olarak azalış gösteren T seviyeleri de bunu desteklemektedir.. Spano vd., (2004), atrazine'e (1000 µg/L) maruz kalan *Carrassius auratus*'ların plazma T ve 11-KT seviyelerinin azaldığını, E2 seviyelerinin ise arttığını belirtmişlerdir [Spano, vd., 2004]. Folmar vd., (2001), kirleticilere maruz kalan erkek *Stizostedion vitreum*'larda E2 oranının dişilere yakın olduğunu, bozulan steroid hormon mekanizmasına P450 enzimlerindeki artışın neden olabileceğini belirtmişlerdir [Folmar, vd., 2001]. Sole vd., (2002), (2003), yoğun kirletici etkisinde erkek *C. carpio*'ların serum E2 seviyelerinin, P450 enzim ve Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir [Sole vd., 2002, Sole vd., 2003a]. McArdle vd., (2000), yoğun östrojenik kimyasal içerdiği bilinen kanalizasyon arıtma tesisi sularına maruz kalan erkek *Morone saxatilis* x

Morone chrysops'ların P450 enzim ailesinden CYP1A ve EROD aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir [McArdle vd., 2000].

Çalışmamızda erkek *C. carpio*'ların kontrol gruplarında VTG seviyelerinde değişim gözlenmemiştir. 7. gün yüksek doz uygulamasında, VTG seviyeleri artış göstermiş, 7. gün düşük doz uygulamasında ise kontrol grubuna göre değişim gözlenmemiştir. Bunun nedenin artan E2 miktarının VTG sentezini indükleyecek seviyeye ulaşamamasının olduğu düşünülmektedir [Folmar vd., 2001]. 15. günde her iki doz uygulamasında VTG seviyeleri kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Teleostlarda, özelliklede sazanlarda, dolaşıma katılan E2 hormonlarının VTG sentezini yönlendiren temel faktör olduğu belirtilmektedir [Sole vd., 2003a]. Çalışmamızda erkek *C. carpio*'larda VTG'nin seviyelerinde artışlar, E2 seviyelerindeki artışlar ile paralellik göstermektedir. Goodbred vd., (1997), Yonkos vd., (2010), Folmar vd., (2001), yoğun kirletici etkisinde olduğu tespit edilmiş bölgelerden yaptıkları örneklemelerde sırasıyla erkek sazanlarda, *Cyprinodon variegatus*'larda ve *Stizostedion vitreum*'larda yüksek VTG seviyelerine rastlandığını bildirmişlerdir [Goodbred vd., 1997, Folmar, vd., 2001, Yonkos vd., 2010]. Benzer bulgular Tian vd., (2009), tarafından OF'lı monocrotophosa maruz kalan erkek *Carassius auratus*'larda da bildirilmiştir [Tian, 2009].

Çalışmamızda 30. gün her iki doz uygulamasında da VTG seviyeleri 15. güne göre azalış göstermiştir. Karaciğer, MFO aktivitesinin fazla olmasından dolayı OF'luların etkilerine son derece hassas bir organdır [Kime, 1998]. Bu sebepten, E2 salınımında bozulma olmadığı durumlarda VTG seviyelerinde azalış genellikle karaciğer hasarı ile ilişkilendirilmektedir [Kime, 1998]. Histolojik olarak yaptığımız incelemelerde erkek *C. carpio*'ların karaciğer dokularında 30. günde, 7. ve 15. güne kıyasla daha yoğun patolojik bulgu gözlenmiştir. Oluşan patoloji karaciğerde bulunan östrojen reseptörlerinin (ER) yapısını bozarak E2 hormonlarının bağlanmasını azaltıcı etki göstermiş olabilir. Ayrıca, OF pestisitlerin makroskobik bulgular ortaya çıkmadığı durumlarda moleküler düzeyde hasara yol açtığı bilinmektedir [Kime, 1998]. Arnold vd., (1996) disulfotona maruz kalan *Oncorhynchus mykiss*'lerde makroskobik hasar görülmemesine rağmen mitokondrilerde deformasyon, peroksizom ve sitoplazmada miyelin oluşumu, endoplazmik retikulumlarda vezikülasyon ve genişlemelerin olduğunu bildirmişlerdir

[Arnold vd., 1996]. Diazinona maruz kalan *C. carpio*'larda moleküler düzeyde oluşması muhtemel bu hasarlar, VTG seviyesinin düşüne neden olmuş olabilir. Folmar vd., (2001), erkek *Paralichthys dentatus*'larda E2 artışına zıt olarak düşüş gösteren plazma VTG seviyelerinin, böbreklerde VTG'nin elimine edilmesi ile açıklanabileceğini belirtmiştir [Folmar, 2001]. 30. günde her iki dozda da ortaya çıkan VTG düşüşüne bu tür bir eliminasyon sürecinin neden olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, diazinona maruz kalan erkek bireylerde E2 ve buna bağlı olarak VTG seviyelerinde artış belirlenirken, dişi bireylerin serum E2 ve T seviyelerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim saptanmamıştır. VTG seviyeleri deneme sonunda istatistiksel olarak önemli bir azalış göstermiştir. Dişilerin kontrol gruplarında E2 seviyeleri -istatistiksel olarak önemli olmasada- süreye bağlı olarak artış göstermiş ve bu durum da kontrol grubunda VTG seviyelerini arttırmıştır. Kirleticilerin aynı türün dişi ve erkek bireylerinin endokrin sistemini ve parametrelerini farklı şekilde etkilediğine dair birçok çalışma bulunmaktadır [Dong vd., 2013, Folmar vd., 1996, Ishibashi vd., 2004, Lee vd., 2006, Sole vd., 2002, Sole vd., 2003a, Spano vd., 2004]. Erkek bireylerde diazinona bağlı olarak ortaya çıkan etkilerin dişi bireylerde görülmemesinin nedenlerinden bir tanesinin östrojen taklitçisi kimyasalların gonodotropin salınımını olumsuz şekilde etkilemiş olabileceği olasılığıdır. Sole vd., (2003) kirleticilere maruz kalan dişi sazanlarda düşük VTG seviyelerinin ölçüldüğü belirtmişlerdir. Bu duruma östrojenik kimyasalların gonodotropin sekresyonu üzerinde oluşturduğu olumsuz etkinin neden olabileceğini bildirmişlerdir. Gonadotropin sekresyonunda oluşan negatif geribildirim (feedback)'in E2 seviyelerini değiştirmeden, VTG sentezini azaltabileceğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada dişi sazanlarda vitellojenin ve hormon seviyelerinin değişiminde biyolojik faktörlerin, ksenobiyotik etkilere göre daha belirleyici olduğunu bildirmişlerdir [Sole vd., 2003b]. Benzer gerekçeler Folmar vd., (1996) tarafından da tespit edilmiştir [Folmar vd., 1996].

Tiroit, büyüme, prolaktin ve kortizol hormonlarının hepatik VTG sentezini indüklediği bilinmektedir [Carnevali vd., 2000, Ding vd., 1994, Folmar vd., 1996, Monteverdi ve Di Guilo, 2000, Pavlidis vd., 2000, Peyon vd., 1996] . Kime (1998), OF'lı malathiona maruz kalan Hindistan kökenli tatlı su balıklarının plazmalarında

triiodothironin (T3) ve tiroksin (T4) hormon seviyelerinin düştüğünü, atrazine'e maruz kalan sazanlarda plazma kortizol seviyelerinin arttığı bildirmiştir [Kime, 1998]. Nieves-Puigdoller vd., (2007), atrazine'in atlantik salmonlarında kortizol seviyelerini yükselttiğini, Oruç, (2010) ve Cericato vd., (2008), OF'lı chlorpyrifos-ethyl, methyl-parathion ve glyphosate'ın farklı balık türlerinde kortizol seviyelerini düşürdüğünü belirtmişlerdir [Cericato vd., 2008, Nieves-Puigdoller vd., 2007, Oruç, 2010]. Folmar vd., (1996), kortizolün erkek *Oreochromis niloticus*'larda VTG mRNA artışına, dişi *Oncorhynchus mykiss*'lerde ise E2 salınımında azalmaya, serum bağlanma kapasitesinde artışla birlikte, hücresele ve çekirdek bağlanma bölgelerinin sayılarında azalışa ve dişi *Silurus glanis*'lerde plazma VTG seviyelerinde azalışa neden olduğunu bildirmişlerdir [Folmar vd., 1996]. Diazonun etkisine bağlı olarak ortaya çıkan stres ve kan plazmasında yükselen kortizol seviyelerinin dişi ve erkek bireyleri farklı etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Dişilerde E2 seviyelerinde değişim olmaksızın VTG seviyelerindeki düşüşün nedeninin, kortizolün karaciğerde bulunan ve VTG sentezini başlatacak hepatik östrojen reseptörlerinin sayısını azaltmış olması olabilir. Aynı şekilde kortizolün karaciğerde yaratmış olabileceği bu muhtemel etki T3 ve T4 hormonlarının bağlanma bölgelerini etkileyip VTG sentezini baskılamış olabileceği de düşünülmektedir.

Manabe vd., (2006) tarafından yapılan bir çalışmada diazinonun MtT/Se hücrelerinde bulunan östrojen reseptörlerine (ER β ve ER α) yüksek bağlanma aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada MtT/Se hücrelerinde diazinonun ER β 'ya kıyasla ER α 'ya daha yüksek bağlanma özelliği gösterdiği belirtilmiştir [Manabe vd., 2006]. *C. carpio*'larda böyle bir bulguya ulaşamamakla beraber dişi *Oreochromis mossambicus*'ların hepatik dokularında ER α ekspresyonunun erkeklerle göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir [Davis vd., 2008]. Dişi bireylerde görülen VTG azalışının nedenlerinden birisinin de diazinonun dişi bireylerin hepatik dokularında daha fazla olması muhtemel ER α 'ya bağlanarak antagonist etki göstermesi olabilir.

Diazinonun diazoxon formuna metabolize edilmesi MFO tarafından gerçekleşir [Kiezer vd., 1995] ve MFO etkisini gösterebilmek için sitokrom P450 enzimlerine ihtiyaç duyar [Kime, 1998]. Sitokrom P450 enzim ailesinden

CYP1A'nın erkek sazanlarda dişi sazanlara göre daha fazla bulunduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur [Sole vd., 2002, Sole vd., 2003a]. Benzer şekilde dişi bireylerde doğal olarak daha fazla olduğu bilinen E2 hormonunun CYP1A aktivitesini azaltıcı etki yaptığı yine yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [Navas ve Segner, 2000]. Ayrıca cinsiyete bağlı P450 enzimlerinin düzenlenmesinde tiroit, büyüme, cinsiyet hormonlarının yanısıra kirleticiler tarafından aktive edilen metabolitlerin sorumlu olduğu bilinmektedir [Dong vd., 2013]. Doğal olarak erkek bireylerde dişi bireylere göre daha fazla olduğu bilinen sitokrom P 450 enzimleri MFO etkisini, erkek bireylerde daha fazla arttırmış olması muhtemeldir. Bu durum erkek bireylerde diazinonun diazoxon formuna daha fazla metabolize edilmesini sağlamış olabilir. Böylece olası antagonist etki dişi bireylerde daha yüksek düzeyde ortaya çıkmış olup VTG sentezini baskılamış olabilir. Bunun yanısıra diazinonun etkisi ile dişi bireylerin T3 ve T4 hormonlarında ortaya çıkması muhtemel değişimler MFO'yu etkileyerek VTG seviyelerindeki azalışı desteklemiş olabilir. MFO aktivitesinin, tiroid ve hipotalamusta ER'lerinin etkinliğini arttırdığı bilinmektedir [Kime, 1998]. Tiroid ve hipotalamusta bulunan östrojenik reseptörlerin aktivitesindeki artış dolaşıma katılan E2 hormonlarının karaciğerdeki ER'ne bağlanmasını azaltıcı etki göstermiş olabilir. Buda VTG sentezinin azalmasıdaki gerekçelerden biri olabilir.

Lee vd., (2006), 4-nonylphenol (4-NP)'a maruz kalan *Rivulus marmoratus*'larda m-vitellogenin gen ekspresyonunun cinsiyete bağlı olarak farklı derecelerde etkilendiğini bildirmişlerdir. 4-NP etkisinde erkeklerde m-vitellogenin gen ekspresyonu kontrol grubuna göre milyonlarca kat artmışken, hermafrodit balıklarda bu artış çok düşük seviyelerde kalmıştır [Lee vd., 2006]. Benzer bulgular Le Goff vd., (2006) tarafından atrazine'e maruz kalan *Drosophila melanogaster*'lerde de bildirilmiştir. Atrazine'e maruz kalan erkek *Drosophila*'larda VTG üretimini sağlayan genler artış gösterirken, dişi bireylerde bu genlerin bastırıldığı ifade edilmiştir [Le Goff vd., 2006]. Diazinonun *C. carpio*'larda böyle bir etki gösterip göstermediği bilinmemektedir. Gerçekleşmesi muhtemel böyle bir etki de VTG sentezinin erkeklerde artıp, dişilerde düşüşünün diğer bir gerekçesi olabilir.

Bu çalışmada, 0.448 mg / L konsantrasyonunda diazinonun uygulandığı *C. carpio*'ların karaciğerlerinde; sinüzoidlerde ve venalarda dilatasyonlar ile

konjesyonların yanısıra lenfosit infiltrasyonları belirlenmiştir. Pankreatik dokunun çevrelediği portal damarlarda da proteokazeöz bir sıvının birikimi tespit edilmiştir. Bahsedilen sıvı birikimi 0,976 mg / L konsantrasyonda diazinonun uygulandığı balıklarda da belirlenmiş, ayrıca bu konsantrasyonun uygulandığı balıklarda merkezi damarlarda dilatasyonlar, konjesyonlar, nekrozlar ve safra kanallarında dilatasyonlar tespit edilmiş, bunun yanında pigment birikimlerinin varlığı da saptanmıştır.

Metabolik faaliyetlerin ve detoksifikasyon süreçlerinin temel organı olan karaciğer, metabolizmadaki her türlü değişiklikten ve toksik maddelere maruziyetten en çok etkilenen organlardan birisidir. Birçok toksik madde karaciğerde biyolojik olarak daha az toksik maddeye dönüştürülerek safra kesesi aracılığıyla dışarı atılmakta, bazı toksik maddeler ise depolanmaktadır. Organik fosforlu pestisitlerin de balıkların karaciğer dokularında oluşturduğu farklı patolojik görünümler tespit edilmiştir. Chlorpyrifos'un farklı balık türlerinde koagülasyon nekrozu, lökosit infiltrasyonları, melanomakrofaj odakları sinuzoidlerde dilatasyon ve konjesyonlar, sitoplazmik ve nükleer değişiklikler, panreas dokuda nekrozlar, vakuolasyonlar ile safra kanallarında hiperplaziler oluşturduğu saptanmıştır [Ogueji vd., 2007, Aniladevi Kunjamma vd. 2008]. Malathion'a maruz bırakılan *Heteropneustes fossilis*'te hepatositlerde sitoplazmik ve nükleer hasarlar, fibröz bağdoku artışı, sinuzoidlerde konjesyonlar, kanamalar ve nekrozlar tespit edilmiştir [Deka ve Mahanta, 2012]. Benzer histopatolojik görünüm; glyphosate, lorsban, trichlorfon, fenitrothion, dichlorvos, dimethoate gibi organofosfatlı pestisitlerin etkisinde kalan *Oreochromis niloticus*, *Prochilodus lineatus*, *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus*, *Channa punctatus*, *Cirrhinus mrigala*, ve *Brachydanio rerio* türlerinde de belirlenmiştir. [Langiano ve Martinez, 2008, Shiogiri vd., 2012, Gawish vd., 2011, Rodrigues vd., 2001, Guimaraes vd., 2007, Akhter ve Saha, 2013, Velmurugan vd., 2009, Langiano ve Martinez, 2008, Rodrigues ve Fanta, 1998].

C. carpio'da organofosfatlı pestisitlerin patolojik etkilerinin incelendiği araştırmalarda bu türün, chlorpyrifos ve glyphosate'a maruz kaldığında karaciğer dokusunda histopatolojik değişiklikler olduğu saptanmıştır. Pal vd., (2012), chlorpyrifos'un hepatositlerde hipertrofi ve atrofiler, sitoplazmik vakuolizasyonlar, çekirdek dejenerasyonları ile nekrozlar oluşturduğunu belirlemişlerdir. Neskovic vd., (1996) ile Szarek vd., (2006), ise glyphosate'ın sinuzoidlerde konjesyonlar ve

fibröz doku artışına neden olduğunu tespit etmiş, vakuolar dejenerasyon, damarlarda hiperemi, fibröz bağ doku artışı, nekrotik odaklar ve lenfosit hücre infiltrasyonlarını belirlemişlerdir. Tantawy vd., (2005), fethion'un hepatositlerde atrofilere, pankreas lümenlerinde asidofilik granül birikimlerine neden olduğunu saptamışlardır.

Bu tez çalışmasında da kullanılmış olan diazinon'a maruz bırakılan balık türlerinde de karaciğer dokusunda histopatolojik görünüme ait bulgular bulunmaktadır. Rahman vd., (2002), *Anabas testudineus*, *Channa punctatus* ve *Barbodes gonionotus* türlerinde diazinon'un hepatositlerde hipertrofiler, konsantrasyona bağlı olmak üzere değişen seviyelerde nekroz, vakuolasyonlar, hepatosit çekirdeklerinde piknoz ve kanamalara yol açtığını belirlemişlerdir. Bununla birlikte diazinon uygulamalarında daha çok gonad dokularının histopatolojik görünümü incelenmiştir [Dutta ve Maxwell, 2003, Banaee vd., 2013b, Dutta ve Meijer, 2003, Maxwell ve Dutta, 2005].

Çalışmamızda karaciğer dokusunda tespit edilen histopatolojik bulgular, organofosfatlı pestisitlerin balıklarda oluşturduğu bulgular arasında yer almaktadır. Pestisitler gibi bileşikler ilk etkilerini hücre veya organel düzeyinde göstermektedirler. Diazinon karaciğerde mikrozomal enzimler ile diazoxona dönüştürülmektedir. Bu durum pestisitinin konsantrasyonunun artışlarına bağlı olarak farklı düzeylerde hücresel hasarlarla sonuçlanan değişikliklere neden olmaktadır. Karaciğer hücrelerinin hasar görmesi ile birlikte safra salgılanmasında bozulmalar şekillenmekte ve bu da salgının hücrelerde hapsolmesine yol açmaktadır. Böylelikle hücrelerde fonksiyon azalması ortaya çıkmakta ve sitopazma ile çekirdek hasarlarının yanı sıra nekrozlar oluşmaktadır [Shiogiri vd., 2012, Fanta vd., 2003]. Safra kanallarındaki genişlemelerin oluşan toksik stres koşullarına karşı hepatositlerin rejenerasyonuna yardımcı olmak amacıyla oluşabileceği düşünülmektedir [Kunjamma vd., 2008]. Langiano ve Martinez, (2008), *Prochilodus lineatus*'ın glyphosate'a maruz kalması sonrasında oluşan ve safra kanalında tıkanmalar neticesinde görülen hücresel pigment birikimini, kimyasal maddenin etkisiyle gelişen safra metabolizmasındaki bozukluk sonrasında safranın, hücre içinde kalarak birikmesinden şekillendiğini belirtmiştir. Makrofaj yığımları ise hemosiderin, melanin, lipofuscin ve seroid gibi pigmentleri içerebilmektedir. Herrarez ve Zapata'ya göre melanomakrofaj merkezleri'nin artışı ekzojen ve endojen

kaynaklı etkenlere karşı humoral ve yangısal yanıt ile ilişkilidir [Rabbitto vd., 2005]. Marchand vd., (2008), Güney Afrika'da sucul kirliliğin olduğu bölgeden yakaladıkları *Clarias gariepinus*'ların karaciğerlerinde melanomakrofaj merkezlerinde artış, granüler ve yağ dejenerasyonu, hepatosit çekirdeklerinde değişiklikler ve nekroz tespit etmişlerdir. Bu değişiklikleri, karaciğerin sindirim sistemi aracılığıyla taşınan maddelerin ilk metabolize olduğu bölge olması nedeniyle ve bu maddelerle birlikte dolaşıma giren toksik maddelerin tutulduğu ilk organ olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Melanomakrofaj merkezlerinin stres oluşturan kimyasal kirleticilerin varlığında, rastlanma sıklıklarının ve boyutlarının arttığı tespit edildiğinden, sucul ortamlar için iyi bir biyo indikatör oldukları değerlendirilmesi yapılmaktadır [Agius ve Roberts, 2003]. Ruehl-Fehlert vd., (2005), 4-tert-pentylphenol'ün farklı derişimlerinin uygulandığı *Pimephales promelas* türünde karaciğer ve testis dokularında interstisyel ve intravasküler bölgelerde proteokazeöz bir sıvı birikimini tespit etmiş ve bu maddenin vitellojenin olabileceğini ifade etmişlerdir. Bu birikimin kimyasal maddenin östrojenik etkisi sonucu gelişen vitellojenin sentezinin artışından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Pestisitler balıkların üreme sistemleri üzerinde; fekditenin azalması, testis ve ovaryumlarda histopatolojik hasarlar, vitellojenez sürecinde bozukluklar, steroidojenez aşamalarında bozukluklar, gonad gelişiminde bozukluklar, üreme, çiftleşme ve yumurtlama davranışlarında değişiklikler gibi çok farklı etkiler meydana getirebilmektedir [Banae, 2013]. Bizim çalışmamızda 0,448 mg / L konsantrasyonunda diazinonun uygulandığı *C.carpio*'ların testis dokularında, seminifer tübül yapılarında dejenerasyonlar ve intertübuler boşluklarda bulunan hücrelerin sayısında artış ile karakteristik fibrozis olgusuna rastlanmıştır. 0,976 mg / L konsantrasyonunda diazinonun uygulandığı *C.carpio*'ların testis dokularında da intertübüler boşluklarda bulunan kan damarlarında konjesyonlar ve yine bu boşluklarda yer alan bulunan hücrelerin sayısında artışı ile şekillenen fibrozis olgusuna rastlanmıştır. Ovaryumlarda ise, 0,976 mg / L konsantrasyonda diazinonun uygulandığı balıklarda oositler arasında adezyonlar ve oositlerin sitoplazmalarında nekrozlar saptanmıştır.

Testis dokusunun histopatolojisi ile ilgili araştırmalarda diazinon ile yapılan çalışmaların yanı sıra organoklorlu pestisitlerin ya da sucul ortamlarda bulunan farklı

kirleticilerin bu doku üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Diazinon'un subletal dozlarının uygulandığı *Lepomis macrochirus*'larda testis dokusunda seminifer tübüllerde ve lümenlerinde genişlemeler, tübül yapılarında bozulmalar ve hücre büyüklüklerinde değişiklikler tespit edilmiştir [Dutta ve Meijer, 2003]. Oluşan patolojinin, diazinonun doku üzerinde direkt toksik etkisi nedeni ile ve gonadotrof hormonların seviyelerinde meydana getirdiği değişikliklerle ortaya çıktığı belirtilmiştir. Masouleh vd. (2011), *Rutilus frisii kutum* türünde diazinonun, testis dokusunun germ hücrelerinde nekrozlara neden olduğunu belirlemiştir. Mlambao vd. (2009), *Oreochromis mossambicus*'ta DDT'nin testislerde; seminifer tübüllerde dejenerasyonlar, spermatozoidlerde piknoz, intersitisyel boşluklarda da eritrosit infiltrasyonlarının varlığını belirlemişler ve bu durumun hormonal düzensizlikten kaynaklandığını belirtmişlerdir. Dutta vd. (2006), *Lepomis macrochirus*'larda endosulfan'ın testis dokusunda, seminifer tübül yapısında bozukluklar, spermatogonia sayısında artış, ve intersitisyel bağ dokusunda hasarlar oluşturduğunu belirlemiştir. Paraso ve Capitan (2012), Filipinler'de endokrin bozucu kimyasal kirleticilerin varlığının tespit edildiği Laguna Körfezi'nden yakaladıkları *C. carpio*'ların testislerinde interstisyel alanlarda fibrozis, spermatogonia sayılarında artış, makrofaj kümeleşmeleri ve vitellojenin birikimlerinin varlığını belirlemiştir. Bizim çalışmamızda gözlemlediğimiz ve diğer çalışmalarda tespit edilenlerle benzerlik gösteren bulgular, testis dokusunun hem diazinonun direkt olarak toksik etkisine maruz kaldığı, hem de hormonal değişimlerin bu patolojik bulguların ortaya çıkmasında rol oynadığı olasılığını düşündürmektedir.

Diazinonun ve diğer pestisitlerin ovaryum dokusunu da etkilediği belirlenmiştir. Diazinonun *Lepomis macrochirus*'larda oositlerde sitoplazmik geri çekilmelere, adezyonlara, sitoplazmik dejenerasyonlara, follikül içi boşlukta artışa, karyoplazmik kümeleşmelere (sitoplazmada vakuolasyonlara) ve nekrozlar ile atretik follikül sayısında artışa neden olduğu tespit edilmiştir [Dutta ve Maxwell, 2003, Maxwell ve Dutta, 2005]. Yapısal patolojik görünümün genellikle toksik maddeden kaynaklanan lizis nedeniyle olabildiği gibi hücrelerin otolizi ile de oluşabildiği belirtilmektedir ve her iki etkinin de oositlere zarar verdiği bilinmektedir. Oositler arasında şekillenen adezyonun, gelişim sürecindeki oositlerin bir sonraki gelişim evresine geçişine engel olduğu düşünülmektedir. Atretik follikül artışının ise

hipofizektomi, fotoperiyot, tuzluluk değişimleri, çevresel stres etkenleri, kirlilik ve gonadotrof hormon düzeylerinde azalma durumlarında daha sıklıkla ortaya çıktığı belirtilmektedir [Gökçe, 1997, Üçüncü ve Çakıcı, 2009]. Magar ve Bias, (2013), yine bir organofosfatlı pestisit olan malathion'un etkisiyle *Channa punctatus*'larda oositlerinin sitoplazmalarında vakuolasyonlar, nekrozlar ve parçalanmaların meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Organoklorlu pestisitler de benzeri patolojilerin gelişmesine yol açmaktadırlar [Magar ve Bias, 2013]. Mlambao vd. (2009), *Oreochromis mossambicus*'ta DDT'nin ovaryumlarda; atretik follikül sayısında artış, interstisyel boşluklarda vitellojenin birikimi ve oositlerde nekrozlara neden olduğunu belirlemişlerdir. Spano vd., (2004), atrazinin yine ovaryumlarda atretik follikül sayısında artışına neden olduğunu tespit etmişlerdir. Oluşan atretik folliküllerin aynı zamanda organizmada homeostazisi korumak amacıyla apoptotik (programlanmış hücre ölümü) bir mekanizmanın etkisi nedeniyle uyarıldığı da düşünülmektedir [Üçüncü ve Çakıcı, 2009]. Bizim çalışmamızda ovaryumlarda görülen patolojik bulgular pestisitlerin yol açtığı patolojik bulgulardan olmakla birlikte oluşan patoloji düzeyi daha zayıftır. Balık türlerinde diazinonun etkisi; emilimine, asetilkolinesteraz inhibitör etkisine ve detoksifikasyon düzeyine göre değişiklik gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalar, balık türlerinin bazılarında testislerin daha fazla etkilendiğini gösterirken bazı türlerde ovaryumların daha yoğun etkilendiğini tespit edilmiştir [Masouleh vd. 2011]. Genelde toksisitenin etkisinin uygulama süresine bağlı olarak artması beklenirken bazı çalışmalarda oositlerin farklı gelişim aşamalarının uygulama sürelerinden farklı düzeylerde etkilenebildiği de belirlenmiştir [Dutta, Maxwell, 2003].

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

OF'lı bir pestisit olan diazinona maruz kalan *C. carpio*'ların erkek bireylerinde süreye ve derişime bağı olarak E2 hormon seviyelerinin arttığı, T hormon seviyesinin ise azaldığı belirlenmiştir. E2 hormonunda artışa bağı olarak VTG seviyelerinde önce artış daha sonra azalış meydana gelmiştir. Bu durumun karaciğerde saptanan histopatolojik bulgular ile de desteklendiğı belirlenmiştir.

Dişi *C. carpio*'larda, E2 ve T seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değışim gözlenmezken, VTG seviyelerinin deney sonunda azalmış olduğı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda diazinonun dişi ve erkek bireyleri farklı düzeyde etkilediğı görülmüştür. Bu etkinin dişi ve erkek bireylerin arasındaki biyolojik farklılıklardan kaynaklandığı düşünölmektedir. Daha önce yapılmış olan çalışmalar da bu durumu desteklemektedir.

Histopatolojik muayenede, düşük derişim uygulamasında *C. carpio*'ların karaciğerlerinde sinüzoidlerde ve venalarda dilatasyonlar ile konjesyonların yanısıra lenfosit infiltrasyonu belirlenmiştir. Pankreatik dokunun çevrelediğı portal damarlarda da proteokazeöz bir sıvının birikimi tespit edilmiştir. Bahsedilen sıvı birikimi yüksek derişim uygulamasında da görülmüştür. Yüksek derişim uygulamasında ayrıca karaciğer merkezi damarlarında dilatasyonlar, konjesyonlar, nekrozlar ve safra kanallarında dilatasyonlar tespit edilmiş, bunun yanında pigment birikimlerinin varlığı da saptanmıştır.

Düşük derişim uygulamasında erkek *C. carpio*'ların testis dokularında seminifer tüböl yapılarında dejenerasyonlar ve intertubuler boşluklarda bulunan hücrelerin sayısında artış ile karakteristik fibrozis olgusuna rastlanmıştır. Yüksek derişim uygulamasında ise erkek *C. carpio*'ların testis dokularında da intertubuler boşluklarda bulunan kan damarlarında konjesyonlar ve yine bu boşluklarda yer alan hücrelerin sayısında artış ile şekillenen fibrozis olgusuna rastlanmıştır.

Yüksek derişim uygulamasında dişi *C. carpio*'ların ovaryum dokularında, oositler arasında adezyonlar ve oositlerin sitoplazmalarında nekrozlar saptanmıştır.

OF pestisitler yada diazinonun EB etkilerinin belirlenmesinde E2 ve T hormonlarının yanı sıra; 11-KT, GtH-I, GtH-II ,GH, T₃, T₄, prolaktin ve kortizol

hormonlarının düzeylerinin de belirlenmesi mekanizmayı daha doğru tanımlamak açısından önemlidir. Bunun yanısıra endokrin bozucu etkinin oluşmasında rolü olduğu bilinen ve kirlilik çalışmalarında biyoindikatör olarak kabul edilen EROD ve CYP1A aktivitesinin ölçülmesi de önem taşımaktadır.

Serum VTG seviyelerinin yanısıra hepatik VTG'nin ölçülmesi VTG'nin dalgalanmalarının nedenlerinin tespiti açısından önemlidir. Bunun yanısıra erkek bireylerde VTG'nin eliminasyonunun yapıldığı düşünülen organ olan böbreklerde histopatolojik ve immuhistokimya tekniği ile VTG varlığının araştırılması bu kimyasal maddelerin EB etkisinin belirlenmesine katkı sağlayacaktır. Ayrıca histolojik muayenede, karaciğer ve gonad dokularına ilaveten, böbrek ve solungaç dokularının da incelenmesi etki düzeylerinin tespiti açısından değerlendirilmelidir.

DDT, endosulfan, poliklorlu bifeniller, polibrominat difenil eterler, ftalatlar, alkilfenoller, bisfenol A gibi EB etkiye sahip olduğu bilinen kimyasalların kullanımına getirilen kısıtlamaların ardından kullanımı giderek artan OF'ların etkileri göz ardı edilmemelidir. Çalışmamızda diazinonun EB etkisinin olduğuna dair veriler elde edilmiştir. EB kimyasallar sadece etkiye maruz kalan bireyi değil aynı zamanda sonraki jenerasyonlarında etkileyebilmektedir. Eş seçimi ve kur yapma davranışında değişiklik, yanlış yumurtlama bölgesinin seçimi, düşük döllenme başarısı, düşük sperm hareketliliği, kusurlu larva doğumu, dişi bireylerde maskülinizasyon ya da erkek bireylerde feminizasyon, türlerin popülasyon devamlılığını etkileme potansiyeline sahip olgulardır.

Bu bilgilerin ışığında OF'ların kullanımına kısıtlamalar getirilmesi, çevreye ve ekosisteme daha az zararlı olduğu bilinen bileşiklerin kullanımının teşvik edilmesi, sucul ekosisteme karışma ihtimali yüksek olan dere, nehir, ırmak vs., gibi bölgelere yakın yerlerde kullanımının yasaklanması ya da doğada yarılanma ömrü daha kısa olan OF'ların tercih edilmesi bu bileşiklerin sucul ekosistem üzerinde oluşturacağı etkilerin azaltılması açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- Agius, C., Roberts, R.J. "Melanomacrophage centres and their role in fish pathology", *Journal of Fish Diseases*, 26: 499-509, (2003).
- Ahmad, Z. "Acute toxicity and haematological changes in common carp (*Cyprinus carpio*) caused by diazinon exposure", *African Journal of Biotechnology*, 10:63, 13852-13859, (2011).
- Akhter, M.A., Saha, A.K. "Effects of Fenitrothion on some histo-architecture of freshwater fish *Channa punctatus*", *Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 5(6): 27-32, (2013).
- Alahyary, P., Poor, M. I., Azarbaijani, F. F., Nejadi, V. "The Potential Toxicity of Diazinon on Physiological Factors in Male Rat", *Journal of Biological Sciences* 11: 1, 127 - 130, (2008).
- Aniladevi K.P., Philip, B., Bhanu, S.V., Jose, J. "Histopathological effects on *Oreochromis mossambicus* (tilapia) exposed to chlorpyrifos", *Journal of Environmental Research And Development*, 2(4): 553-559, (2008).
- Aprea, C., Strambi, M., Novelli, M.T., Lunghini, L., Bozzi, N. "Biologic Monitoring of Exposure to Organophosphorus Pesticides in 195 Italian Children", *Environ Health Perspect*, 108(6): 521-525, (2000).
- Arcand-Hoy, L. D., Benson, W. H. "Fish reproduction: An ecologically relevant indicator of endocrine disruption", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17: 1, 49 - 57, (1998).
- Arnold, H., Pluta, H. J., Braunbeck, T. "Sublethal Effects of Prolonged Exposure to Disulfoton in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Cytological Alterations

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

in the Liver by a Potent Acetylcholine Esterase Inhibitor", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34, 43-55, (1996).

Arukwe, A., Goksøyr, A. "Eggshell and egg yolk proteins in fish:hepatic proteins for the next generation—oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption", *Comparative Hepatology*, <http://www.comparative-hepatology.com/content/pdf/1476-5926-2-4.pdf>, (06.03.2003).

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), "Toxicological Profile for diazinon <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp86.pdf> (10.09.2008).

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), "Toxicological Profile for diazinon" <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles> (10.09.2011).

Banaee, M., Davoodi M.H., Zoheiri, F. "Histopathological changes induced by paraquat on some tissues of gourami fish (*Trichogaster trichopterus*)", *Open Veterinary Journal*, 3(1): 36-42, (2013a).

Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A. R., Ahmadi, K. "Biochemical and histological changes in the liver tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sub-lethal concentrations of diazinon", *Fish Physiol. Biochem.*, 39, 489-501, (2013b).

Barr, D.B., Bravo, R., Weerasekera, G., Caltabiano, L.M., Whitehead, R.D., Olsson, A.O., Caudill, S.P., Schober, S.E., Pirkle, J.L., Sampson, E.J. "Concentrations of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in the U.S. population.", *Environ Health Perspect*, 2: 186-200, (2004).

Bisson M., Hontela A. "Cytotoxic and endocrine-disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan, and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of

rainbow trout exposed in vitro”, *Toxicol Appl Pharmacol*, 180(2): 110-117, (2002).

Bucheli, T. D., Fent, K. "Induction of cytochrome P450 as a biomarker for environmental contamination in aquatic ecosystems", *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 25 (3), 201-268, (1995).

Carnevali, O., Mosconi, G., Magni, A. M. "Involvement of tyrosine kinase and cAMP in growth hormone-induced vitellogenin synthesis in the anuran, *Rana esculenta*", *Life Sciences*, 67(12): 1467-1476, (2000).

Cericato, L., Neto, J. G., Fagundes, M., Kreutz, L. C., Quevedo, R. M., Finco, J., Santos da Rosa, J. G., Koakoski, G., Centenaro, L., Pottker, E., Anziliero, D., Barcellos, L. J. "Cortisol response to acute stress in jundiá *Rhamdia quelen* acutely exposed to sub-lethal concentrations of agrichemicals”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148: 281-286, (2008).

Cope, G. W., Leidy, R. B. ve Hodgson, E., "A Textbook of Modern Toxicology, 3rd ed.", *Classes of Toxicants: Use Classes*, (Editör: Hodgson, E.), A John Wiley & Son Inc., New Jersey, 49-74, (2004).

Criswell, J. T., Shelton, K., Luper, C., "Pesticide Applicator Certification Series Toxicity of Pesticides”, *Oklahoma State Univ. Coop. Ext. Serv. Facts*, No. 7457, (1991).

Curl, C.L., Fenske, R.A., Elgethun, K. "Organophosphorus Pesticide Exposure of Urban and Suburban Preschool Children With Organic and Conventional Diets.", *Environ Health Perspect*, 111(3): 377-382, (2003).

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

Dang, Z. C., Li, K., Yin, H. W., Hakkert, B., Vermeire, T. "Endpoint sensitivity in fish endocrine disruption assays: Regulatory implications", *Toxicology Letters*, 202: 36–46, (2011).

Davis, L. K., Pierce, A. L., Hiramatsu, N., Sullivan, C. V., Hirano, T., Grau, E. G. "Gender-specific expression of multiple estrogen receptors, growth hormone receptors, insulin-like growth factors and vitellogenins, and effects of 17 β -estradiol in the male tilapia (*Oreochromis mossambicus*)", *General and Comparative Endocrinology*, 156:3, 544-551, (2008).

Dawson, A. "Mechanisms of Endocrine Disruption with Particular Reference to Occurrence in Avian Wildlife: A Review", *Ecotoxicology*, 9: 59-69, (2000).

Deka, S., Mahanta, R. "A Study on the Effect of Organophosphorus Pesticide Malathion on Hepato-Renal and Reproductive Organs of *Heteropneustes fossilis* (Bloch)", *The Science Probe*, 1 (1): 1-13, (2012).

Demirdöğen, B. C, "Organofosfatlı- Pestisit- Zehirlenmeleri ve Serum Paraoksonaz 1 (Pon1) Enziminin Organofosfat Metabolizmasındaki Rolü", *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*; 2: 97-112, (2010).

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A, Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A. "Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları", 6. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi Kitabı, Ankara, Cilt 2, 629-648, (2005).

Ding, J. L., Lim, E. H., Lam, T. J. "Cortisol-Induced Hepatic Vitellogenin mRNA in *Oreochromis aureus* (Steindachner)", *General and Comparative Endocrinology*, 96(2): 276-287, (1994).

Dong, M., Zhu, L., Shao, B., Zhu, S., Wang, J., Xie, Hui, Wang, J., Wang, F. "The effects of endosulfan on cytochrome P450 enzymes and glutathione S-

transferases in zebrafish (*Danio rerio*) livers", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 92: 1-9, (2013).

Dutta, H.M. and Maxwell, L.B. "Histological examination of sublethal effects of diazinon on ovary of bluegill, *Lepomis macrochirus*", *Environmental Pollution*, 121: 95-102, (2003).

Dutta, H.M. and Meijer H.J.M. "Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis", *Environmental Pollution*, 125: 355-360, (2003).

Dutta, H.M., Misquitta, D. and Khan, S. "The Effects of Endosulfan on the Testes of Bluegill Fish, *Lepomis macrochirus*: A Histopathological Study", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 51: 149-156, (2005).

El-Aziz, M. I., Sahlab, A. M., El-Khalik, M. "Influence of diazinon and deltamethrin on reproductive organs and fertility of male rats", *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 101(6), 230-2, (1994).

Elersek, T., Filipic, M. "Pesticides - The Impacts of Pesticides Exposure", *Organophosphorous Pesticides - Mechanisms of Their Toxicity*, (Editor: Stoytcheva, M.), InTech Europe, Rijeka, 245-260, (2011).

El-Mazoudy, R. H., Attia, A. A. "Endocrine-disrupting and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, diazinon in reproductive toxicity of male mice", *Journal of Hazardous Materials*, 209, 210: 111-120, (2012).

EPA Interim Reregistration Eligibility Decision, Diazinon. United States Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances 7508C. (2004).

EPA (U.S. Environmental Protection Agency Endocrine Disruptor Screening Program Universe of Chemicals),

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

http://www.epa.gov/endo/pubs/edsp_chemical_universe_list_11_12.pdf,
(Kasım, 2012).

Fanta, E., Rios, F.S., Romao, S., Vianna, A.C.C, Freiburger, S. "Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54: 119-130, (2003).

FAO, "2 nd FAO/WHO Joint Meeting On Pesticide Management And 4 Th Session Of The FAO Panel Of Experts On Pesticide Management", Geneva, 41 s., (2007).

Fattahi, E., Parivar, K., Jorsaraei, S. G., Moghadamnia, A. A. "The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels and testicular tissue in mice", *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 7:2, 59-64, (2009).

Folmar, L. C., Denslow, N. c., Rao, V., Chow, M., Crain, D. A., Enblom, J., Marcino, J., Guillette, L. J. "Vitellogenin Induction and Reduced Serum Testosterone Concentrations in Feral Male Carp (*Cyprinus carpio*) Captured Near a Major Metropolitan Sewage Treatment Plant", *Environmental Health Perspectives*, 104(10): 1096-1101, (1996).

Folmar, L. C., Denslow, N. D., Kroll, K., Orlando, E. F., Enblom, J., Marcino, J., Metcalfe, C., Guillette, L. J. "Altered Serum Sex Steroids and Vitellogenin Induction in Walleye (*Stizostedion vitreum*) Collected Near a Metropolitan Sewage Treatment Plant", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 40: 392-398 (2001).

Fuji, Y., Asaka, S. "Metabolism of Diazinon and Diazoxon in Fish Liver Preparations", *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 29, 445-460 (1982).

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

Fulton, M.H and Key, P.B. “Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphor”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1): 37-45, (2001).

Gawish, A.M, Issa, A.M., Ali, M.A., Ismail, G.A. “Histopathological, Histochemical and Biochemical Studies on the Effects of Lorsban on the Liver of Nile Tilapia and the Possible Declaring Effect of Antioxidants”, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(12): 75-94, (2011).

Goad, R. T., Goad, J. T., Atieh, B. H., Gupta, R. C., "Carbofuran-Induced Endocrine Disruption in Adult Male Rats", *Toxicology Mechanisms and Methods*, 14: 233-239, (2004).

Goodbred, S. L., Gilliom, R. J., Gross, T. S., Denslow, N. P., Bryant, W. L., Schoeb, T. R. "Reconnaissance of 17 β -Estradiol, 11-Ketotestosterone, Vitellogenin, and Gonad Histopathology in Common Carp of United States Streams: Potential for Contaminant-Induced Endocrine Disruption ", *U.S. Geological Survey*, 96(627): 47, (1997).

Goksoyr, A. "Endocrine Disruptors in the marine environment: Mechanisms of toxicity and their influence on reproductive processes in fish", *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 69:175-184, (2006).

Gökçe, M.A., “Reproductive Biology and Feeding Ecology of Gurnards”, *University of Wales, Doktora Tezi*, 136 s., (1997).

Grube, A., Donaldson, D., Kiely, T, Wu, L. “Pesticides Industry Sales and Usage - 2006 and 2007 Market Estimates” , *United States Environmental Protection Agency Office of Chemical Safety and Pollution Prevention*, Washington, (2011).

Guimaraes, A.T.B., Silva de Assis, H.C. Boegera, W. “The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68: 57-62, (2007).

Gupta, R. C., “Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds”, *Classification and Uses of Organophosphates and Carbamates*, (Editör: Gupta, R. C.), Elsevier's Science & Technology Rights Department, Oxford, 5-24, (2006).

Hentschel, H., Elger, M., Dawson, M. And Renfro J. L. “The Laboratory Fish”, *Urinary Tract*, (Editör: Ostrander, G. K.), Academic Press, London, 181-187, (2000).

Holbeck, H., Kinneg, K., Petersen, G. I., Jackson, P., Hylland, K., Norrgren, L., Bjerregaard, P. “Detection of endocrine disrupters: Evaluation of a Fish Sexual Development Test (FSDT)”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 144(1): 57- 66, (2006).

Hong, Y., Yu, B., Sherman, M., Yuan, C., Zhou, D., Chen, S. "Molecular Basis for the Aromatization Reaction and Exemestane-Mediated Irreversible Inhibition of Human Aromatase", *Molecular Endocrinology*, 21(2): 401-414, (2007).

Hotchkiss, A. K., Rider, C. V., Blystone, C. R., Wilson, V. S., Hartig, P. C., Ankley, G. T., Foster, P. M., Gray, C. L., Gray, L. E. “Fifteen Years after ‘Wingspread’ Environmental Endocrine Disrupters and Human and Wildlife Health: Where We are Today and Where We Need to Go”, *Toxicological Sciences*, 105(2): 235-259, (2008).

Husoy, A. M., Myers, M. S., Goksoyr, A. "Cellular localization of cytochrome P450 (CYP1 A) induction and histology in Atlantic cod (*Gadus morhua L.*) and European flounder (*Platichthys flesus*) after environmental exposure to

contaminants by caging in Sarriorden, Norway", *Aquatic Toxicology*, 36: 53-74, (1996).

Ishibashi, H., Matsumara, N., Hirano, M., Matsuoka, M., Shiratsuchi, H., Ishibashi, Y., Takao, Y., Arizono, K. "Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin", *Aquatic Toxicology*, 67:167-179, (2004).

Jamili, S., Hoseini, M. M., Mashinchian, A., Noori, M. "Effects of diazinon on female *Chalcalburnus chalcoides* (Cyprinidae) serum estradiol levels" *Toxicological & Environmental Chemistry*, 90(1): 107-112, (2008).

Jaroli, D.P., Sharma, B. L. "Effect of Organophosphate Insecticide on the Organic Constituents in Liver of *Channa punctatus*", *Asian J. Exp. Sci.*, 19(1): 121-129, (2005).

Jayachandra, S. "Pre- and Postnatal Toxicity of Diazinon Induces Disruption of Spermatogenic Cell Line Evidenced by Increased Testicular Marker Enzymes Activities in Rat Offspring", *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 32(1): 73-90, (2013).

Johari, H., Shariati, M., Abbasi, S., Sharifi, E., Askari, H. R. "The effects of diazinon on pituitary-gonad axis and ovarian histological changes in rats", *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 8(3): 125-130, (2010).

Jobling, S., Tyler C.R "Endocrine disruption in wild freshwater fish", *Pure Appl. Chem.*, 75: 2219–2234, (2003).

JPR (Journal of Pesticide Forum), "Diazinon Toxicology", <http://www.pesticide.org/get-the-facts/pesticide-factsheets/factsheets/diazinon>, (2000).

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

Kazemi, M., Tahmasbi, , A. M., Valizadeh, R., Naserian, A. A., Soni, A., Moheghi, M. M. "Importance and toxicological effects of organophosphorus pesticides: A comprehensive review", *Basic Research Journal of Agricultural Science and Review*, 1(3): 43-57, (2012).

Keizer, J., D'Agostino, G., Nagel, R., Volpe, T., Gnemi, P., Vittozzi, L. "Enzymological differences of AChE and diazinon hepatic metabolism: correlation of in vitro data with the selective toxicity of diazinon to fish species" *The Science of the Total Environment*, 171: 213-220, (1995).

Kiely, T., Donaldson, D., Grube, A., "Pesticides Industry Sales and Usage. 2000 and 2001 Market Estimates." United States Environmental Protection Agency Office of Chemical Safety and Pollution Prevention, Washington, (2004).

Kime, D. E., "Endocrine Disruption In Fish", Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, 396s., (1998)

Kime, D. E., Nash, J. P., Scoot, A. P. "Vitellogenesis as a biomarker of reproductive disruption by xenobiotics", *Aquaculture*, 177(1-4): 345-352, (1999).

Kirby, M. F., Allen, Y. T., Dyer, R. A., Feist, S. W., Katsiadaki, I., Matthiessen, P., Scott, A. P., Smith, A., Stentiford, G. D., Thain, J. E., Thomas, K. V., Tolhurst, L., Waldock M. J. "Surveys of plasma vitellogenin and intersex in male flounder (*Platichthys flesus*) as measures of endocrine disruption by estrogenic contamination in United Kingdom estuaries: Temporal trends, 1996 to 2001", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(3): 748-758 , (2004).

Kitamura, S., Suzuki, T., Ohta, S., Fujimoto, N., "Antiandrogenic Activity and Metabolism of the Organophosphorus Pesticide Fenthion and Related Compounds", *Environmental Health Perspectives*, 111(4) : 503 -508, (2003).

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

Kloas, W., Lutz, I. "Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals in vitro", *The Science of the Total Environment*, 225: 59-68, (1999).

Kunjamma, A. K., Philip, B., Bhanu, S. V., Jose, J., "Histopathological effects on *Oreochromis mossambicus* (Tilapia) Exposed To Chlorpyrifos", *Journal of Environmental Research And Development*, 2(4): 553 - 559 (2008)

Langiano, V.C., Martinez, C.B.R. "Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*", *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147: 222-231, (2008).

Larkin, D. J. ve Tjeerdema, R.S. "Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Fate and Effects of Diazinon", (Editör: Geroge W. Ware) *Rev. Environ. Contm. Toxicol.*, 166: 49-82, (2000).

Lavado, R., Thibaut, R., Raldua, D., Martin, R., Porte, C. "First evidence of endocrine disruption in feral carp from the Ebro River", *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196(2): 247-257, (2004).

Lee, Y. M., Seo, J. S., Kim, C., Yoon, Y. D., Lee, J. S. "Endocrine disrupting chemicals (bisphenol A, 4-nonylphenol, 4-tert-octylphenol) modulate expression of two distinct cytochrome P450 aromatase genes differently in gender types of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345: 894-903, (2006).

Le Goff, G., Hilliou, F., Siegfried, B. D., Boundy, S., Wajnberg, E, Sofer, L., Audant, P., Constant, R. H., Feyereisen, R. "Xenobiotic response in *Drosophila melanogaster*: Sex dependence of P450 and GST gene induction", *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 36: 674-682, (2006).

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

Lorenz, E. S., "Toxicity of Pesticides", Information and Communication Technologies in the College of Agricultural Sciences, (2006).

Machova, J., Prokes M., Svobodova Z., Zlabek V., Penaz, M. and Barus, V. "Toxicity of diazinon 60 EC for *Cyprinus carpio* and *Poecilia reticulata*", *Aquacult Int.*, 15: 267-276, (2007).

Magar R.S., Bias U.E. "Histopathological Impact of Malathion on the Ovary of the Fresh Water fish *Channa punctatus*", *Int. Res. J. Environment Sci.*, 2(3): 59-61, (2013).

Manabe, M., Kanda, S., Fukunaga, K., Tsubura, A., Nishiyama, T. "Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay", *Int. J. Hyg. Environ.-Health*, 209: 413-421, (2006).

Marchand, M.J., Van Dyk, J.C., Pieterse, G.M., Barnhoorn, I.E.J. "Bornman, M.S. Histopathological Alterations in the Liver of the Sharptooth Catfish *Clarias gariepinus* from Polluted Aquatic Systems in South Africa", *Environmental Toxicology*, 24 (2): 133-147, (2008).

Masouleh, F.F., Amiri, B.M., Mirvaghefi, A.R., Nemptollahi, M.A. "In vitro Effects of Diazinon on Male Reproductive Tissue and Sperm Motility of Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*)", *Research of Journal of Environmental Toxicology*, 5(2): 108-116, (2011).

Matthiessen, P. "Endocrine disruption in marine fish", *Pure and Applied Chemistry*, 75(11): 2249 - 2261, (2003).

Maxwell, L. B., Dutta, H. M. "Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 21-27, (2005).

- McArdle, M., Elskus, A., McElroy, A., Larsen, B., Benson, W., Schlenk, D., "Estrogenic and CYP1A response of mummichogs and sunshine bass to sewage effluent", *Marine Environmental Research*, 50, 175 - 179, (2000)
- Mlambo, S. S., Vuren, J.H.J., Barnhoorn, I.E.J., Bornman, M. S. "Histopathological changes in the reproductive system (ovaries and testes) of *Oreochromis mossambicus* following exposure to DDT", *Environ Toxicol Pharmacol.*, 28 (1): 133-139, (2009).
- Monteverdi, G. H., Di Giulio, R. T. "Vitellogenin Association and Oocytic Accumulation of Thyroxine and 3,5,3*-Triiodothyronine in Gravid *Fundulus heteroclitus*", *General and Comparative Endocrinology*, 120: 198-211, (2000).
- Moore, A., Waring, C. P. "Sublethal effects of the pesticide Diazinon on olfactory function in mature male Atlantic salmon parr", *Journal of Fish Biology*, 48(4): 758-775, (1996).
- Munkittrick, K. R., Servos, M. R. "Survey of receiving-water environmental impacts associated with discharges from pulp mills 2. Gonad size, liver size, hepatic erod activity and plasma sex steroid levels in white sucker", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(7): 1089–1101, (1994).
- Navas, J. M., Segner, H. "Modulation of trout 7-ethoxyresoru@n-O -deethylase (EROD) activity by estradiol and octylphenol", *Marine Environmental Research*, 50: 157-162, (2000).
- Nieves-Puigdoller, K., Bjömsson, B. T., McCormick, S. D. "Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon", *Aquatic Toxicology*, (84): 27-37, (2007).

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

Neškovic, N. K., Poleksic, V., Elezovic, I., Karan, V., Budimir, M. “Biochemical and Histopathological Effects of Glyphosate on Carp, *Cyprinus carpio* L.”, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 56: 295-302, (1996).

Nilsen, B. M., Berg, K., Eidem, K. J., Kristiansen, S. I., Brion, F., Porcher, J. M., Goksøyr, A. “Development of quantitative vitellogenin-ELISAs for fish test species used in endocrine disruptor screening”, Anal Bioanal Chem, 378: 621-633 (2003).

NPIC (National Pesticide Information Center), <http://npic.orst.edu/factsheets/diazinontech.html>, (Ocak, 2009).

Oberdörster, E., Cheek, A. O. “Gender benders at the beach: Endocrine disruption in marine and estuarine organisms”, Environmental Toxicology and Chemistry, 20(1): 23-36, (2001).

Ogueji, E. O., Auta, J., Balogun, J.K., Ibrahim, N.D.G. “The histopathological effects of sublethal doses of chlorpyrifos-ethyl on the liver and gills of African catfish, *Clarias gariepinus*”, ChemClass Journal, 4: 49-59, (2007).

Oruç, E. “Oxidative stress, steroid hormone concentrations and acetylcholinesterase activity in *Oreochromis niloticus* exposed to chlorpyrifos Pesticide Biochemistry and Physiology”, Pesticide Biochemistry and Physiology, (96): 160-166, (2010).

Pal, S., Kokushi, E., Koyama, J., Uno, S., Ghosh, A.R., “Histopathological alterations in gill, liver and kidney of common carp exposed to chlorpyrifos”, Journal of Environmental Science and Health, 47: 80-195, (2012).

Paraso, M.G.V., Capitan, S.S. “Vitellogenin induction and gonad abnormalities in male Common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus) introduced to Laguna de bay, Philippines”, Philipp J. Vet. Anim. Sci., 38(1): 34-44, (2012).

Pavlidis, M., Greenwood, L., Mourot, B., Kokkari, C., Le Menn, F., Divanach, P., Scott, A. P. "Seasonal Variations and Maturity Stages in Relation to Differences in Serum Levels of Gonadal Steroids, Vitellogenin, and Thyroid Hormones in the Common Dentex (*Dentex dentex*)", *General and Comparative Endocrinology*, 118(1): 14-25, (2000).

Petrovic, M., Sole, M., Lopez De Alda, M. J., Barcelo, D. "Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: Integration of chemical analysis and biological effects on feral carp", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(10): 2146-2156, (2002).

Peyon, P., Baloche, S., Gerard, E. B. "Potentiating Effect of Growth Hormone on Vitellogenin Synthesis Induced by 17 β -Estradiol in Primary Culture of Female Silver Eel (*Anguilla anguilla* L.) Hepatocytes", *General and Comparative Endocrinology*, 102(2): 263-273, (1996).

Plimmer, J. R., "Handbook of Pesticide Toxicology Principles, 2nd ed.", *Chemistry of Pesticides*, (Editör : Robert Krieger), Academy Press, Florida, 96-108, (2001).

Pope, C. N. "Organophosphorus Pesticides: Do They All Have The Same Mechanism Of Toxicity", *Journal of Toxicology and Environmental Health*, Part B, 2: 161-181, (1999).

Pope, C. N., "Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds", *Organ Toxicity*, (Editör: Gupta, R. C.), Elsevier's Science & Technology Rights Department, Oxford, 5-24, (2006).

Porte, C., Janer, G., Lorusso, L. C., Ortiz-Zarragoitia, M., Cajaraville, M. P., Fossi, M. C., Canesi, L. "Endocrine disruptors in marine organisms: Approaches

and perspectives", *Comparative Biochemistry and Physiology, C*, 143: 303-315, (2006).

Rabitto, I.S., Alves Costa, J.R.M., Silva de Assis, H.C., Pelletier, E., Akaishi, F.M., Anjos, A., Randi, M.A.F., Oliveira Ribeiro, C.A. "Effects of dietary Pb(II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 147-156, (2005).

Rahman, M.Z., Hossain, Z., Mollah, M.F.A., Ahmed, G.U. "Effect of Diazinon 60 EC on *Anabas testudineus*, *Channa punctatus* and *Barbodes gonionotus*. Naga The Iclarm Quarterly, 25(2): 8-12, (2002).

Rodrigues, E. L., Fanta, E. "Liver Histopathology of The Fish *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchman After Acute Exposure to Sublethal Levels of The Organophosphate Dimethoate 500", *Revta Bras. Zool.*, 15(2): 441-450, (1998).

Rodrigues, E. L., Ranzani-Paiva, M.J.T., Pacheco, F.J., Veiga, M.L. "Histopathologic lesions in the liver of *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae) exposed to a sublethal concentration of the organophosphate insecticide Dipterex 500® (Trichlorfon)", *Acta Scientiarum Maringá*, 23(2): 503-505, (2001).

Rotchell, J. M., ve Ostrander, G. K. "Molecular markers of endocrine disruption in aquatic organisms *Journal of Toxicology and Environmental Health* 6: 453-495, (2003).

Ruehl-Fehlert, C.I., Bomke, C., Dorgerloh, M. "Histopathological evaluation and plasma vitellogenin measurements in a fish screening assay for endocrinomodulating compounds", [http://www.cefic-lri.org/uploads/Project %20publications/LRI37 \(OECD38\) %20](http://www.cefic-lri.org/uploads/Project%20publications/LRI37%20(OECD38)%20), (2005).

- Sarabia, L., Maurer, I., Bustos-Obregon, E. "Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 938-942, (2009).
- Scholz, S., Mayer, I. "Molecular biomarkers of endocrine disruption in small model fish", *Molecular and Cellular Endocrinology*, 293(1-2): 57-70, (2008).
- Shiogiri, N.S., Paulino, M.G., Carraschi, S.P., Baraldi, F.G., Cruz, C., Fernandes, M.N. "Acute exposure of a glyphosate-based herbicide affects the gills and liver of the Neotropical fish, *Piaractus mesopotamicus*", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 3(4): 388-396, (2012).
- Short, S., Meyers, T.R., "Histology for Finfish", Alaska Fish and Game C.F. Division, Juneau and Anchorage, 1-10, (2001).
- Singh, S., Singh T.P. "Seasonal profiles of sex steroids in blood plasma and ovarian tissue of *Clarias batrachus*", *General and Comparative Endocrinology*, 65(2): 216-224, (1987).
- Singh, P. B., Singh, T. P. "Impact of malathion and γ -BHC on steroidogenesis in the freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*", *Aquatic Toxicology*, 22: 69-79, (1992).
- Sole, M., Barcelo, D., Porte, C. "Seasonal variation of plasmatic and hepatic vitellogenin and EROD activity in carp, *Cyprinus carpio*, in relation to sewage treatment plants", *Aquatic Toxicology*, 60: 233-248, (2002).
- Sole, M., Raldua, D., Piferrer, F., Barcelo, D., Porte, C. "Feminization of wild carp, *Cyprinus carpio*, in a polluted environment: plasma steroid hormones, gonadal morphology and xenobiotic metabolizing system", *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 136: 145-156, (2003a).

Sole, M., Raldua, D., Piferrer, F., Barcelo, D., Porte, C. "Long-term exposure effects in vitellogenin, sex hormones, and biotransformation enzymes in female carp in relation to a sewage treatment works", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56: 373-380, (2003b).

Spano, L., Tyler, C. R., Aerle, V R., Devos, P., Mandiki, S. N. M., Silvestre, F., Thome, J. P., Kestemont, P. "Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish (*Carassius auratus*)", *Aquatic Toxicology*, 66: 369-379, (2004).

Stoytcheva, M., Zlatev, R., "Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis", *Organophosphorus Pesticides Analysis*, (Editör: Stoytcheva, M.), InTech Europe, Rijeka, 145-164, (2011).

Sumpter, J. P., Jobling, S. "Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment", *Environ Health Perspect*, 103(7): 173-178 (1995).

Szarek J., Babinska I., Truszczynska M., Kolman R., Siwicki A.K., Kowalski I.M., Wojtacka J., Kolman H., Banaszkiwicz T., Skibniewska K.A. "Effect of the herbicide Avans 330 SL on the liver pathomorphology of clinically healthy carp (*Cyprinus carpio* L.) and carp infected by *Ichthyophthirius multifiliis*", *Arch. Pol. Fish.*,14: 169-182, (2006).

Tantawy, H.M., Sharaf, M.M., Abd Elnabi, I.M., Tag, H.M. "Immunohistopathological effects of fenthion toxicity on the common carp (*Cyprinus carpio*)", *Egypt. J. Aquat. Biol & Fish*, 9(1): 185-202, (2005).

Taylor, P., "Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics, 11rd ed.", *Anticholinesterase Agents*, (Editör: Brunton, L. L.), McGraw-Hill, New York, (2006).

Korkmaz, C., 2013. *Pullu Sazan (Cyprinus carpio, L., 1758)'da Diazinon'un Cinsiyet Steroidleri ve Vitellojenin Düzeyleri Üzerine Etkileri ve Histopatolojisi.*

Tian, H., Ru, S., Wang, Z., Cai, W., Wang, W. "Estrogenic effects of monocrotophos evaluated by vitellogenin mRNA and protein induction in male goldfish (*Carassius auratus*)", *Comparative Biochemistry and Physiology*, 150: 231-236, (2009).

Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S. "Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri", *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2): 154-169 (2010).

Toman, R., Adamkovicova, M., Massanyi, P., Cabaj, M., Lukac, N., Martiniakova, M., Omelka, R. "Cadmium And Diazinon-Induced Changes In The Rat Testis Structure After A Peroral Administration In Drinking Water", *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2(2): 564 -575, (2012).

Tyler, C. R., Jobling, S., Sumpter, J. P. "Endocrine Disruption in Wildlife: A Critical Review of the Evidence", *Critical Reviews in Toxicology*, 28(4): 319-361, (1998).

Tyler, R.C, Aerle, V.A., Hutchinson, T. H., Maddix, S., Trip, H. "An in vivo testing system for endocrine disruptors in fish early life stages using induction of vitellogenin", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(2), 337-347, (1999).

Üçüncü, S.İ., Çakıcı, Ö. "Atresia and Apoptosis in Preovulatory Follicles in Ovary of *Danio rerio* (Zebrafish)" *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9: 215-221, (2009).

Velmurugan, B, Selvanayagam, M., Cengiz, E.I, Unlu, E. "Histopathological Changes in the Gill and Liver Tissues of Freshwater Fish, *Cirrhinus mrigala* Exposed to Dichlorvos", *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 52(5): 1291-1296, (2009).

Wall, S. B., "Sublethal effects of cadmium and diazinon on reproduction and larval behavior in zebrafish (*Brachydanio rerio*)", Texas Tech Üniversitesi, Doktora Tezi, 125 s., (1999).

Watterson, A.E. "Regulating pesticides in the UK: a case study of risk management problems relating to the organophosphate diazinon", *Toxicol. Lett.*, 107(1-3): 241-248, (1999).

Weltzien, F. A., Andersson, E., Andersen, O., Shalchian-Tabrizi, K., Norberg, B. "The brain-pituitary-gonad axis in male teleosts, with special emphasis on flatfish (*Pleuronectiformes*)", *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 137: 447-477, (2004).

WHO (2008). IPCS International programme on chemical safety, the WHO recommended classification of pesticides and guidelines to classification, (2008).

Wu, R. S., Zhou, B. S., Randall, D. J., Woo, N. Y. S., Lam, P. K. S., "Aquatic Hypoxia is an Endocrine Disruptor and Impairs Fish Reproduction", *Environ. Sci. Technol.*, 37(6): 1137-1141, (2003).

Yang, H.S., Hodgson, E., Dauterman, W. C., "Metabolism in Vitro of Diazinon and Diazoxon in Rat Liver", *Agric. Food Chem.*, 19:(1), 10-13, (1971).

Yonkos, L. T., Fisher, D. J., Van Veld, P. A., Kane, A. S., McGee, B. L., Staver, K. W. "Poultry litter-induced endocrine disruption in fathead minnow, sheepshead minnow, and mummichog laboratory exposures", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(10): 2328-2340, (2010).

Zidan, N. A. "Evaluation of The Reproductive Toxicity of Chlorpyrifos Methyl, Diazinon and Profenofos Pesticides in Male Rats", *International Journal of Pharmacology*, 5(1): 51-57, (2009).

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: Cengiz Korkmaz

Doğum Tarihi: 01/11/1985

Öğrenim Durumu: Lisans mezunu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise			2000-2003
Lisans		Mersin Üniversitesi	2004-2009
Yüksek Lisans		Mersin Üniversitesi	2010-.....

(Varsa) Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Araştırma Görevlisi	Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Ana Bilim Dalı	2011-.....

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

- Dönmez, A. E., Korkmaz, C.** "Balon Balıkları (*Lagocephalus sceleratus* ve *Lagocephalus spadiceus*)'nda Deri Dokusunun Histolojik Yapısı", 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül, İzmir Ege Üniversitesi, (2012)
- Dönmez, A. E., Korkmaz, C.** "Karaduvar Limanından (Mersin, Türkiye) Yakalanan İnce Dudaklı Kefal (*Liza ramada*)'lerin Karaciğer Dokusunun Histopatolojisi ", 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül, İzmir Ege Üniversitesi, (2012)